

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

MARLI ADELINA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA TRANSFUSIONAL POR MEIO DO
ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DAS HEPATITES VIRAIS B, C, DE
HIV-I/II E DE CITOMEGALOVÍRUS EM DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCENTRO REGIONAL DE LAGES**

Florianópolis
2004

MARLI ADELINA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA TRANSFUSIONAL POR MEIO DO
ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DAS HEPATITES VIRAIS B, C, DE
HIV-I/II E DE CITOMEGALOVÍRUS EM DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCENTRO REGIONAL DE LAGES**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmácia na área de concentração em Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

Orientador: Prof. Celso Spada, Dr.

**Florianópolis
2004**

Ficha Catalográfica

SOUZA, Marli Adelina.

Avaliação da segurança transfusional por meio do estudo soroepidemiológico das Hepatites Virais B, C, de HIV-I/II e de citomegalovírus em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages. Florianópolis, 2004.

116 p.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Farmácia - Área de Concentração em Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Orientador: Prof. Celso Spada, Dr. Florianópolis: UFSC, 2004

1. Doadores de sangue, Hepatite B, Hepatite C, HIV, CMV, soroprevalência, risco residual.

"Não se pode ensinar tudo a alguém, pode-se apenas ajudá-lo a encontrar por si mesmo."

Galileu Galilei

Dedico à minha filha Mariana, presente de Deus, motivo de maior incentivo, pelo amor, alegrias e aceitação da minha ausência nos momentos em que me dediquei à esta dissertação;

à minha mãe Ivanize, pelo amor, compreensão e pelos ensinamentos de honestidade, dignidade;

às minhas irmãs, que sempre estiveram ao meu lado, confiando e apoiando, pela amizade, estímulo.

AGRADECIMENTO

Agradeço a colaboração de todos aqueles que participaram e apoiaram a elaboração deste trabalho. De uma forma muito especial agradeço

Ao meu orientador e amigo, Prof. Celso Spada pelo constante incentivo, sempre indicando a direção a ser tomada nos momentos de maior dificuldade, pela atenção cuidadosa aos detalhes importantes. Agradeço pela confiança.

À empresa REM através da Sra Solange, que incondicionalmente, cedeu os Kits diagnósticos da marca BLOKIT, para a pesquisa do citomegalovírus.

À direção do HEMOSC Coordenador pela confiança em mim depositada na realização deste trabalho.

À direção do Hemocentro Regional de Lages, pela amizade, apoio e companheirismo, nos momentos certos.

Ao Prof. Emil Kupek, pelo profissionalismo e ajuda inestimável.

À Profa. Tânia Fröde, pelas pontuais sugestões na realização deste trabalho.

Aos meus colegas do Hemocentro, pelo apoio e cooperação sempre demonstrados, em especial a Éster, pela sua disposição em substituir-me nos momentos que estava no mestrado. À Eloi, Marisa e Thais pela ajuda preciosa.

Às minhas grandes amigas Patrícia e Sandra que me fizeram acreditar que era possível, quando tudo se apresentava inviável. Pelo apoio incondicional e pela amizade sincera, otimismo e parceria incansável em todos os momentos.

À Mônica do HEMOSC Florianópolis, e Madalena do Hemocentro de Lages, pela colaboração e presteza durante a fase de coleta e elaboração do banco de dados.

À Profa. Tereza pela de revisão de português da dissertação. Ao Caio pela ajuda nas análises estatísticas e paciência em explicá-las.

Aos doadores de sangue, motivo deste trabalho, minha gratidão e reconhecimento.

SUMÁRIO

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1	BANCO DE SANGUE	6
2.1.1	Histórico	6
2.1.2	Triagem sorológica	9
2.2	HEPATITES VIRAIS	11
2.2.1	Histórico	11
2.2.2	Hepatite B	12
2.2.3	Hepatite C	14
2.3	Citomegalovírus	16
2.4	Infecção pelo HIV	17
2.5	Diagnóstico laboratorial das Hepatites B e C, do Citomegalovírus e da Infecção pelo HIV	19
2.6	Avaliação do risco residual	23
III.	OBJETIVOS	25
3.1	OBJETIVO GERAL	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
IV.	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	DELINEAMENTO	27
4.2	POPULAÇÃO EM ESTUDO	27
4.3	CRITÉRIO DE SELEÇÃO DA POPULAÇÃO EM ESTUDO	28
4.4	INSTRUMENTO DA PESQUISA	29
4.5	VARIÁVEIS EM ESTUDO	29

4.6	DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA	30
4.6.1	Caracterização da Amostra	30
4.7	TESTES REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE SOROLOGIA DO HEMOCENTRO	31
4.7.1	Testes de Triagem Sorológica.....	31
4.7.2	Testes de Repetição e Confirmatórios, realizados no Laboratório de Sorologia do HEMOSC Coordenador, em Florianópolis	32
4.8	PRINCÍPIOS DOS TESTES REALIZADOS PELO MÉTODO ELISA.....	33
4.9	CARACTERIZAÇÃO DO MODELO DO CÁLCULO DO RISCO RESIDUAL.....	36
4.10	ASPECTOS ÉTICOS.....	37
4.11	PROCESSAMENTO DOS DADOS	37
4.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
V.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
	TÓPICO I	40
5.1	PERFIL DO DOADOR DE SANGUE.....	40
5.1.1	Análise Descritiva da População	40
	TÓPICO II	49
5.2	Soroprevalência para Marcadores das Hepatites B e C do HIV-I/II	49
5.2.1	Soroprevalência para Marcadores de Hepatites B e C	49
5.2.2	Soroprevalência para Marcadores de HIV-I/II método 1 e método 2	56
	TÓPICO III	60
5.3	Identificação da Soroprevalência de CMV através da Pesquisa dos Marcadores de Anticorpos IgG e IgM nos Doadores de Sangue	60
	TÓPICO IV	70
5.4	Correlação entre os Marcadores Sorológicos para CMV Hepatite B e C e para HIV-I/II.....	70
	TÓPICO V	72
5.5	Determinação do Risco Residual para Marcadores de Hepatite B, C e de HIV-I/II.....	72
VI.	CONCLUSÃO	84
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXOS.....	97

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Infecções transmitidas por transfusões	18
Quadro 2. Proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos empregados nos ensaios imunoenzimáticos para a pesquisa de anti-HCV.....	20
Quadro 3. Diagnóstico da infecção por CMV a partir de diferentes testes laboratoriais	21
Quadro 4. Período de janela imunológica (em dias) de acordo com a metodologia utilizada nos testes de triagem sorológica para detecção de infecção/doença em doadores de sangue.....	23
Quadro 5. População de estudo.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição de freqüência segundo a variável sexo dos doadores de sangue do HRL	40
Tabela 2. Distribuição de freqüência segundo a variável faixa etária dos Doadores de sangue do HRL	41
Tabela 3. Distribuição de freqüência segundo as variáveis faixa etária e sexo dos doadores de sangue do HRL	41
Tabela 4. Distribuição de freqüência da raça, grau de escolaridade e estado civil dos doadores de sangue do HRL	42
Tabela 5. Distribuição de freqüência segundo a variável número de doações dos doadores de sangue do HRL	43
Tabela 6. Resultados da soroprevalência para os marcadores da Hepatite B nos doadores de sangue do HRL	49
Tabela 7. Resultados da soroprevalência para os marcadores da Hepatite C nos doadores de sangue do HRL	50
Tabela 8. Resultados da soroprevalência para os marcadores de HIV-I/II nos doadores de sangue do HRL	56
Tabela 9. Resultados da prevalência para os marcadores anti-CMV nos doadores de sangue do HRL	60
Tabela 10. Distribuição de freqüência das variáveis descritivas (sexo, escolaridade, faixa etária e número de doações) e o resultado para o marcador IgG anti-CMV nos doadores de sangue do HRL	61
Tabela 11. Distribuição de freqüência das variáveis descritivas (sexo, escolaridade, faixa etária e número de doações) e o resultado para o marcador IgM anti-CMV nos doadores de sangue do HRL	62
Tabela 12. Valor do coeficiente de correlação de Spearman entre os marcadores sorológicos para HIV-I/II nos doadores de sangue do HRL	70

Tabela 13. Testes de incidência, estimativa de soroconversão, fator de ajuste e risco residual de HBsAg em doadores de sangue no período de 2000-2003	73
Tabela 14. Testes de incidência, estimativa de soroconversão e risco residual de anti-HCV em doadores de sangue de repetição de 2000-2003	74
Tabela 15. Testes de incidência, estimativa de soroconversão e risco residual de anti-HIV-I/II em doadores de sangue de repetição de 2000-2003	75
Tabela 16. Risco residual estimado para os marcadores de Hepatite B, C e de HIV nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages, no período de 2000 a 2003.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AABB	Associação Americana de Bancos de Sangue
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
Anti-HBc	Antígeno Core do vírus da Hepatite B
Anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno "e" do vírus da Hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo contra o HBsAg
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centro de Controle de doenças e Prevenção
CMV	Citomegalovírus
CNH	Conselho Nacional de Hemoterapia
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DO	Densidade óptica
ELISA	Ensaio imunoenzimático
FAHECE	Fundação de Apoio ao HEMOSC/CEPON
HBeAg	Antígeno E do vírus da Hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da Hepatite B
HBV	Vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HEMOMINAS	Hemocentro de Minas Gerais
HEMOPE	Hemocentro de Pernambuco
HEMOSC	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Santa Catarina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HNANB	Hepatite não A e não B

HPT	Hepatite pós-transfusional
HRP	Peróxido de rábano
HRPO	Enzima peroxidase
HTLV	Vírus linfotrópico de células T humanas
HVA	Vírus da Hepatite A
IgG	Imunoglobulina da classe G
IgM	Imunoglobulina da classe M
LOG	Logaritmo
mL	microlitro
NAT	Teste de amplificação de ácidos nucleicos
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPD	O-fenilenodiamino
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RIBA	Ensaio Immunoblot recombinante
RNA	Ácido ribonucleico
TGP	Alanina-aminotransferase
TMB	Tetrametilbenzidina

RESUMO

A evolução científica e tecnológica para diagnóstico de agentes etiológicos nas doenças transmissíveis pelo sangue e o desenvolvimento de metodologias mais sensíveis e específicas para esses agentes, faz com que diminuam os índices de prevalência dessas doenças. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo soropidemiológico verificando as prevalências dos marcadores para Hepatites virais B e C, para HIV e para CMV em doadores de sangue, verificando a correlação entre os marcadores estudados, e determinar o risco residual dos marcadores para Hepatites B, C e do HIV. Foram analisadas amostras de sangue de 24969 doadores que compareceram ao Hemocentro Regional de Lages no período de 2000 a 2003. Para conhecer o perfil e determinar as soroprevalências dos marcadores, foram analisadas 2968 doadores da amostra inicial. Para análise estatística utilizou-se o programa Stats Direct Statistical software versão 2.3.5, o teste qui-quadrado e o teste de Correlação de Spearman. O cálculo do risco residual seguiu o modelo incidência/janela descrito por Schreiber em 1996. O intervalo de confiança adotado foi de 95%, com $p \leq 0,05$. O estudo demonstrou um novo perfil de doadores, revelando doadores mais jovens, fidelizados e com grau de escolaridade mais elevado. A soroprevalência para os marcadores HBsAg foi verificada 0,17% (IC_{95%} 0,02-0,36); para anti-HCV, 0,20% (IC_{95%} 0,04-0,36) e para o anti-HIV, 0,10% (IC_{95%} 0,00 - 0,21), sendo a mais baixa do Estado. A soroprevalência de anticorpos IgG para CMV detectada nos doadores foi de 96,4% (IC_{95%} 95,23 - 97,50), significando exposição prévia ao citomegalovírus e para IgM-ELISA captura, de 2,3 (IC_{95%} 1,39 - 3,20). O risco residual estimado para os marcadores HBsAg, anti-HCV e anti-HIV-I/II apresentou valores inferiores em seus índices, comparados com anos anteriores, demonstrando aumento da segurança transfusional.

Palavras-chave: Doador de sangue, Hepatites B e C, HIV, CMV, soroprevalência, risco residual.

ABSTRACT

The scientific and technological evolution for the diagnosis of etiological agents, in the diseases that can be transmitted through the blood and, the development of more sensitive and specific methodologies for these agents, contribute for the decrease of prevalent rates of these diseases. The objective of the present work was to carry a serumepidemiological study out to verify the prevalence of the markers for viral Hepatitis B and C, for HIV and for CMV in blood donors, and the correlation between the markers which were studied, as well as, to determine the residual risk of the markers for hepatitis B, C and for HIV. Samples of blood from 24969 donors, registered in the Regional Hemocenter in Lages, were analyzed from 2000 to 2003. In an attempt to know the profile and to determine the serumprevalence of the markers, 2968 donors of the initial sample were analyzed. For the statistical analysis the researcher used the Stats Direct Statistical software, version 2.3.5, the qui-square test and the Spearman correlation test. The verification of the residual risk followed the incidence/window described by Schreiber in 1996. The safe interval was of 95%, with $\leq 0,05$. The present study points to a new profile of donors, revealing younger donors, trustworthy and more educated people. The serumprevalence for the HBsAg markers was verified 0,17% (IC_{95%}0,02-0,36); for the anti-HCV, 020% (IC_{95%}0,04-0,36) and for the anti-HIV, 0,10% (IC_{95%}0,00 - 0,21), the lowest rate in Santa Catarina State. The serumprevalence of anti-bodies IgG for CMV detected in the donors was of 96,4% (IC_{95%} 95,23 - 97,50), which means that there was a previous exposition to the cytomegalovirus, and for the IgM ELISA capture of 2,3 (IC_{95%} 1,39 - 3,20). The estimated residual risk for the HBsAg, the anti-HCV and the anti-HIV-I/II markers presents lower values in their rates compared to the previous years, demonstrating increase on the safety for the transfusions.

Key-words: blood donors, hepatitis B and C, HIV, CMV, serumprevalence, residual risk.

I. INTRODUÇÃO

A descoberta da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e suas conseqüências produziram um grande impacto na sociedade atual, tendo contribuído decisivamente para mudanças de hábitos e costumes, incluindo o comportamento sexual.

Na hemoterapia procedeu-se à revisão dos critérios e indicações para o uso do sangue e hemoderivados (CARMO, 1996), e legislações pertinentes a esta nova realidade foram elaboradas, normatizando as práticas hemoterápicas no Brasil, estabelecendo conjuntos de procedimentos e ações que visam garantir a qualidade do sangue durante todo o seu processo, desde a captação do doador até o ato transfusional, etapas conhecidas como o Ciclo do Sangue (ANEXO 1), pelas quais todo candidato à doação de sangue deve passar, em qualquer serviço hemoterápico do país. Em 2002, foi implantado o regulamento técnico para a obtenção, realização dos testes, processamento e controle de qualidade do sangue e hemocomponentes. Outras portarias e resoluções ministeriais foram acrescentando metodologias, visando diminuir o risco das doenças hemotransmissíveis (VALENTE, 2002; ANVISA, 2004).

A qualidade do sangue e dos hemocomponentes a serem utilizados depende de vários fatores que proporcionam maior segurança transfusional, dentre os quais destacam-se a seleção de doadores, a triagem clínica (ANEXO 2), os exames

imunohematológicos, a triagem sorológica e o uso racional dos hemocomponentes (SAEZ-ALQUEZAR, 1995).

Cada unidade de sangue doada é submetida a um conjunto de testes cujo objetivo é a detecção de doenças transmissíveis por transfusão. Não é possível oferecer segurança total com nenhum deles, havendo sempre unidades de sangue que poderão acarretar prejuízos ao receptor, do ponto de vista de transmissão de infecções, mesmo quando testadas adequadamente. A principal razão disto é a chamada “janela imunológica”, período no qual uma pessoa recentemente contaminada não apresenta anticorpos detectados pelos métodos de triagem sorológica, porém é infectante. Os testes laboratoriais utilizados não são suficientemente sensíveis, para detectar tal situação (NESS, 1990).

Todos estes cuidados e preocupações estão fundamentados nas infecções pós-transfusionais que ocorrem nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, as quais, com maior frequência, são: as hepatites, a infecção por citomegalovírus (CMV), o vírus da imunodeficiência humana-I (HIV-I) e o vírus linfotrópico de células T humanas dos tipos I/II (HTLV-I/II), segundo CROWE; MILLS *In* STITES, et al., (2000).

A hepatite pós-transfusional (HPT) representa um grande problema na área da medicina transfusional. É causada pelo vírus da Hepatite B em 5% dos casos e pelo vírus da hepatite C em 95%. Dos receptores que desenvolvem hepatite pós-transfusional, 50% desenvolvem hepatite crônica, e destes, 10% cirrose. Todos os hemocomponentes podem transmitir essa hepatite (WENDEL *in* FOCACCIA, 2003).

A Hepatite C, considerada atualmente a causa mais importante de hepatite associada à transfusão, responsável por 90 a 95% do total de casos, representa um grave problema aos bancos de sangue. Em contraste com o HBV (vírus da Hepatite B), o HCV (vírus da Hepatite C), apresenta uma alta taxa - que excede os 50% - de progressão para a doença crônica ou cirrose subsequente (CRAWFORD *in* ROBBINS, 2000).

Embora as Hepatites B e C sejam transmissíveis e altamente infecciosas, a grande preocupação está na transmissão do HIV pelo sangue. Nos últimos anos, o Brasil tem apresentando alterações na dinâmica da transmissão do HIV, com grande aumento do número de casos entre mulheres, tendência que tem sido acompanhada pela incidência crescente de casos entre crianças que adquirem o vírus através da mãe infectada (transmissão vertical) (GONÇALVES *in* VERONESI, 2002; WENDEL *in* FOCACCIA, 2003).

O HIV-I pode ser transmitido por hemácias, plaquetas, crioprecipitado, plasma fresco congelado e, possivelmente, por outros componentes sanguíneos. Em 2000 estimou-se o risco de infecção por unidade transfundida em 1/650.000 (VERRASTRO; LORENZI; WENDEL NETO, 2002).

O citomegalovírus é um vírus pouco conhecido nos meios transfusionais, mas que traz sérios problemas para receptores de sangue, especialmente para os neonatos e pacientes imunocomprometidos. É transmitido a receptores CMV-negativos por leucócitos que contaminam os componentes eritrocitários e plaquetários. A morbidade causada pelo CMV promove mortalidade significativa em pacientes gravemente imunocomprometidos (ROBACK, et al., 2003).

Estudos soro-epidemiológicos demonstraram que a infecção pelo CMV ocorre em praticamente todas as regiões do mundo (DE JONG *apud* SCHRÖEDER, 2003). Existem evidências de que a soro-prevalência de anticorpos está relacionada ao nível sócio-econômico das populações estudadas. Em geral, as taxas de soroprevalência variam de 40% a 60% nos países do Hemisfério Norte, de 80% a 100% na África e América Latina (CROWE *in* STITES, et al., 2000). Em São Paulo, as taxas de soroprevalência variaram de 65% a 85%, de acordo com o nível sócio-econômico das populações estudadas (PANNUTI *in* VERONESI, 2002).

Com a implantação das Metas Mobilizadoras da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados, do Ministério da Saúde, a qualidade e segurança no uso de sangue em transfusões, foi melhor avaliada, obtendo-se maior sensibilidade dos testes com a utilização de kits de 3ª geração para a execução da triagem

sorológica na seleção de doadores. Porém, permanece ainda o risco residual de transmissão de hepatites, HIV e outros vírus testados, na possibilidade de obter-se resultados falso-negativos, em decorrência da janela imunológica (VALENTE, 2002).

Para o HIV, nos testes que utilizam antígeno e anticorpo peptídeo sintético, a janela está entre 22 a 25 dias. Em um estudo com 5688 doadores de sangue do Hemocentro da Faculdade de Medicina de Marília, 34 amostras tiveram soroconversão e dessas, 8 para Hepatite B e 1 para Hepatite C (CANUTTI, 1998). A maior sensibilidade e especificidade dos kits para diagnóstico, está diminuindo a janela e conseqüentemente, o risco residual, aumentando o nível de segurança transfusional; Existem estudos nesse sentido com os doadores do Estado de Santa Catarina, porém não são específicos da Região Serrana.

Quanto ao citomegalovírus, o uso de filtros leucodepletors, medicamentos anti-virais e exclusão de doadores de sangue positivos ao CMV são as atuais alternativas utilizadas para diminuir a transmissão desse vírus em transfusões, principalmente para pacientes recém-nascidos, transplantados e ou imunodeprimidos. Para uma análise mais concreta sobre a citomegalovirose, torna-se necessário conhecer a freqüência de exposição à infecção prévia ao CMV nos doadores de sangue e a freqüência dos negativos, uma vez que não existem esses dados referentes à população do Estado de Santa Catarina.

Outros questionamentos devem ser avaliados, entre os quais, a segurança nos doadores de repetição, questionada atualmente. Em um estudo da prevalência e dos fatores de risco de doadores anti-HCV positivos, realizado no Rio de Janeiro, verificou-se que doadores de repetição apresentavam maior índice de sorologia positiva para anti-HCV (PATINO-SARCINELLI et al., 1994).

Em Santa Catarina, em especial na Região do Planalto Serrano, pouco se sabe sobre o atual perfil do doador de sangue. Assim, torna-se importante levar em consideração a influência de variáveis demográficas como sexo, idade, grau de instrução, estado civil e número de doações, para traçar o perfil do doador de sangue nesta região.

A distribuição de marcadores para Hepatites B e C, para HIV e para Citomegalovírus entre doadores de sangue nunca foi objeto de estudo detalhado nos hemocentros do Estado de Santa Catarina e pouco estudado em outros hemocentros do País. Assim, permanecem desconhecidas informações relevantes sobre a ocorrência dessas doenças, relacionando-as com os exames realizados na triagem sorológica, com o objetivo de avaliar a segurança transfusional, razão pela qual decidiu-se realizar este estudo.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BANCO DE SANGUE

2.1.1 Histórico do banco de sangue

"Porque a vida da carne está no sangue" (Levítico)

O sangue sempre teve papel de destaque, ao longo da história da humanidade. Porém, apenas no século passado seu potencial terapêutico foi identificado como de relevância, representando, hoje, uma alternativa importante nas terapias médicas (OBERMAN *apud* KOECHE, 2000).

A descoberta de anticoagulantes e soluções preservantes em 1917, permitiu o início do processo de armazenamento e de estocagem de sangue (ANVISA, 2003). Porém, somente em 1943, Louit e Mollison desenvolveram frascos específicos com uso de anticoagulantes, onde unidades coletadas eram facilmente transportadas até os hospitais de campanha, próximos aos locais de combate durante a 2ª Guerra Mundial (VERRASTRO; LORENZI; WENDEL NETO, 2002).

Reportando-nos à história da criação do banco de sangue, o primeiro serviço de doação de sangue foi criado em Londres em 1921, na Inglaterra. Em 1926 surgiu em Moscou, o primeiro Centro de Hematologia e Transfusão de Sangue. Em 1937, nos Estados Unidos foi criado o primeiro banco de sangue (GIANGRANDE, 2000).

E na década de trinta, centros de transfusões haviam sido instalados por todo o mundo (ANVISA,2003).

No Brasil, em 1941, no Rio de Janeiro, foi implantado o primeiro serviço de hematologia, chamado de banco de sangue, que funcionava como um banco, onde o capital de giro era o sangue (FAGGIONI, 1998; MACHADO *apud* HEMOMINAS, 2001).

Até a década de 60, pouco se fez no campo da hemoterapia em nível Nacional. Em 1969, a Organização Mundial da Saúde (OMS), preocupada com a situação da hemoterapia em todo o mundo, enviou um representante (francês), para fazer um levantamento do sistema hemoterápico no Brasil. Diante desse estudo, ficou clara a necessidade de que o Estado assumisse a responsabilidade do sistema de hemoterapia, garantindo a universalização do atendimento. Com esta visão mais abrangente da hemoterapia e mais clareza da obrigação do Estado, tornou-se necessária uma decisão política do governo para a criação de um Programa Nacional de Sangue e Derivados, com diretrizes básicas para sua expansão por todo o País (BELLATO, 2001).

Na década de 70, o Governo instituiu, no Ministério da Saúde, a Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH), estabelecendo a Política Nacional do Sangue, a qual propunha, entre outras medidas, organizar a distribuição do sangue, a doação voluntária, a proteção ao doador e ao receptor (HEMOSC, 2001).

Em 1980, a Portaria Ministerial 07/80, criou o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados - Pró-Sangue, sendo criados, então, os Centros de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentros), tendo como modelo o HEMOPE (Hemocentro de Pernambuco), que foi o primeiro a ser implantado no País (MACHADO, 2001).

Em âmbito Estadual, o primeiro banco de sangue em Santa Catarina, foi implantado no início da década de 60, em Florianópolis, na Maternidade Carmela Dutra. Em 1964, foi criado o Centro Hemoterápico Catarinense, com sede própria, tendo como finalidade realizar atendimento em todo o Estado, com postos instalados nas principais cidades do interior, sendo, na época, o único banco de sangue do

Brasil com essa abrangência. Em 1971, o Centro Hemoterápico Catarinense foi transferido para o prédio onde funciona até hoje (HEMOSC, 2001).

Seguindo as diretrizes do Plano Nacional de Sangue e Hemoderivados - PLANASHE, atualmente Gerência Geral de Sangue e Hemoderivados -GGSH - ANVISA, em 20 de julho de 1987 foi criado o HEMOSC - Centro de Hematologia e Hemoterapia, através do Decreto-Lei Estadual nº 272, com o objetivo principal de prestar atendimento hemoterápico de qualidade à população da região, bem como dar assistência aos portadores de doenças hematológicas. Em 1989, sua área física e quadro funcional foram ampliados, embasados no Decreto-Lei número 3015, criando o Sistema Estadual de Hematologia e Hemoterapia, com o objetivo de promover a interiorização das ações relativas ao uso do sangue para fins terapêuticos, incentivo à doação voluntária do sangue, medidas de proteção à saúde do doador e receptor, medidas para disciplinar a coleta e controle de qualidade, condições de estocagem e distribuição dos hemocomponentes, bem como promover o desenvolvimento de conhecimento científico e tecnológico na área (HEMOSC, 2001).

Na década de 90, foi instituído um novo modelo de gestão administrativa a Fundação de Apoio ao HEMOSC/CEPON (FAHECE), com o objetivo de apoiar administrativamente as unidades nas áreas da hematologia, hemoterapia e oncologia, mobilizando todos os recursos financeiros, materiais, tecnológicos e humanos para a melhoria da qualidade da assistência destes serviços prestados à população do Estado (BELLATO, 2001).

Ainda na década de 90, o HEMOSC de Florianópolis passou a ser o Hemocentro Coordenador tendo como unidades auxiliares os Hemocentros Regionais, localizados em cinco municípios-pólo: Lages, Joaçaba, Chapecó, Criciúma e Joinville, formando a Hemorrede Pública do Estado de Santa Catarina.

O Hemocentro Regional de Lages foi o primeiro Hemocentro Regional a ser inaugurado em 21 de dezembro de 1994. Tem como objetivo atender os 18 municípios que abrangem a Associação dos Municípios da Região Serrana (Amures), e ocupando uma área de aproximadamente, 16 mil Km², correspondente

a 17,04% do território catarinense com uma população de 223.112 mil habitantes (AMURES, 2003).

2.1.2 Triagem sorológica em banco de sangue

A rápida evolução científica e tecnológica sobre agentes etiológicos de doenças transmissíveis pelo sangue e o desenvolvimento de metodologias mais sensíveis e específicas para detectar o estado de infecção por esses agentes fez com que a sorologia em bancos de sangue se tornasse um tema complexo e de vital importância para a qualidade do produto final (SAÉZ-ALQUEZAR, 1995).

A triagem sorológica tem um significado especial, pois, a partir de um determinado momento, é o único procedimento que vai validar, ou não, a utilização do hemocomponente.

No Brasil, o Ministério da Saúde por meio da Resolução 153/04 do Ministério da Saúde (MS), torna obrigatório que, na triagem sorológica, todos os doadores de sangue sejam submetidos a investigação das seguintes doenças:

- Doença de Chagas (1 teste)
- Sífilis (1 teste)
- Hepatite B (AgHBs - 1 teste)
- Hepatite C (Anti-HCV - 1 teste)
- AIDS (Anti-HIV-I/II - 2 testes)
- HTLV I / II (Anti-HTLV II/ II - 1 teste)
- Anti-HBc (1 teste)

Para outras doenças, como o Citomegalovírus, a Resolução 153/04 dispõe sobre a realização de sorologia para CMV em todas as unidades de sangue ou componentes destinados aos pacientes submetidos a transplantes de órgãos, recém-nascidos de mães CMV negativas ou com resultado de sorologia inexistente ou desconhecido. No caso em que se transfunda sangue desleucocitado neste grupo de pacientes, não há necessidade da realização da sorologia para CMV.

Todos os serviços de triagem sorológica devem participar de pelo menos um programa de controle de qualidade externo (proficiência), devendo também realizar controle de qualidade interno diário, dispondo de um sistema de garantia da qualidade na realização dos testes (ANVISA, 2004).

A maioria dos testes utilizados na triagem sorológica são métodos por ensaio imunoenzimático (ELISA), padronizados, os quais, fornecem o resultado por meio de leitura da D.O em aparelhos automatizados (TELELAB – TESTES DE TRIAGEM, 1997).

Os resultados dos testes de triagem sorológica seguem algoritmos específicos de acordo com a legislação vigente (RDC 153/04), na área de hemoterapia (sangue e hemoderivados). Quando o resultado de um teste ELISA for positivo, o teste deverá ser repetido. Se a repetição do teste ELISA for negativa, a unidade pode ser utilizada para transfusão.

Caso o teste de triagem repetido seja positivo, a unidade é bloqueada e coleta-se uma 2ª amostra de sangue para repetir o teste Elisa e realizar o confirmatório com o método WB ou PCR. Se o teste comprobatório for positivo, a bolsa de sangue é descartada e o doador suspenso definitivamente para doação. Se o teste confirmatório for negativo ou inconclusivo, o nome do doador é colocado em um arquivo de suspensão temporária (POLESKY *in* HARMENING, 1992). O algoritmo para a realização dos testes e liberação de bolsas de sangue para os marcadores da triagem sorológica está representado no ANEXO 3, (ANVISA, 2004).

Várias portarias ministeriais foram acrescentando a obrigatoriedade de outras metodologias, para diminuir o risco de doenças hemotransmissíveis. Entre elas, a Portaria 112 do Ministério de Saúde, de 2004, a qual determina a realização dos testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAT), para o vírus HIV e vírus da Hepatite C (HCV) na triagem sorológica dos doadores de sangue (VALENTE, 2002; ANVISA, 2004).

2.2 HEPATITES VIRAIS

2.2.1 Histórico

Nas décadas de 40 e 50 do século passado, durante a II Guerra Mundial, fez-se necessário o estudo de diversas epidemias de hepatite, estabelecendo-se, a existência de duas formas distintas da doença: a infecciosa (Hepatite A) e a sérica (CARMO, 1996).

O primeiro caso relacionado à transmissão por transfusão sangüínea foi descrito em 1943 por BEESON e col. A partir desta publicação, houve vários relatos associando o aparecimento de hepatites após o uso de sangue e produtos hemoterápicos (JAMA *apud* KUTNER, 1998).

Em 1965, BLUMBERG e col, identificaram, em hemofílicos, um anticorpo que reagia na presença do soro de um aborígine australiano, recebendo o nome de antígeno Austrália (BLUMBERG, 1967). Conhecida a estrutura do vírus da Hepatite B, foi demonstrada a presença do antígeno Austrália na superfície viral, sendo chamado de antígeno de superfície ou HBsAg. Por essa importante descoberta, BLUMBERG recebeu o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1976 (WENDEL *in* FOCACCIA, 2003).

Em 1970, os estudos de DANE e col, demonstraram a partícula viral completa do HBV no soro de indivíduos com Hepatite B. A partir desta demonstração, foi possível caracterizar os marcadores sorológicos do HBV: o antígeno de superfície do vírus da Hepatite B (HBsAg); antígeno "e" de núcleo do vírus da Hepatite B (HBeAg); o antígeno de Core do vírus da Hepatite B (HBcAg); e os anticorpos anti-proteína de superfície do vírus da Hepatite B (anti-HBs) e anticorpo anti-proteína e do vírus da Hepatite B (anti-HBe), (PETZ, 1996).

Em 1973, com a identificação do vírus da Hepatite A (HAV), tornou-se possível separar sorologicamente as Hepatites A e B. Os bancos de sangue passaram, então, a adotar a pesquisa do HBsAg na triagem dos doadores,

reduzindo acentuadamente a incidência da Hepatite B pós transfusional (FEINSTONE et al., *apud* BRANDÃO, 1999).

Na ausência de um teste específico para a Hepatite não A e não B (HNANB), os bancos de sangue, no início da década de 80, acrescentaram dois marcadores: a alanina-aminotransferase (ALT ou TGP) e o anticorpo contra o antígeno Core do vírus da Hepatite B (anti-HBc). Com a adoção desses marcadores, houve redução de 30 a 50% na incidência das hepatites pós transfusionais (CHAMONE; NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER, 2001).

No final da década de 80 (oitenta), CHOO e col (1989), identificaram o Vírus da Hepatite C (HCV), sendo o mesmo caracterizado por clonagem genômica e reconhecido como o principal agente das hepatites não A não B (HNANB); outros marcadores sorológicos específicos foram desenvolvidos e introduzidos na triagem sorológica dos doadores de sangue, diminuindo ainda mais a incidência das hepatites pós-transfusionais, porém sem eliminá-las totalmente (SOLDAN, et al., 2002).

2.2.2 Hepatite B

O HBV pertence ao gênero *Orthohepadnavirus* e à família Hepadnavírus. Apresenta nucleocapsídeo icosaédrico, genoma composto por DNA com fita parcial dupla. O HBV apresenta um diâmetro de 42nm, contendo um envelope externo (ou superfície) lipídico de 7nm, no qual se situam as proteínas HBsAg, glicoproteínas e lipídios celulares. Seu invólucro e o nucleocapsídeo (Core) completo compõem a partícula de Dane (REVEG, SCHIFF, 2000). O nucleocapsídeo abriga o DNA, a respectiva enzima DNA polimerase, o HBcAg e o HBeAg. Depois que se integra ao DNA da célula hospedeira, o HBV passa a se replicar, produzindo antígenos (HBsAg, HBcAg e HBeAg), geralmente em proporções bem maiores que as partículas virais completas. A produção do HBsAg é aproximadamente 2 mil vezes maior que a das partículas virais completas (SILVA, GRANATTO, 1986; VALENTE, 2002).

O HBV é transmitido por transfusão sangüínea e de hemoderivados, transplante de órgãos, hemodiálise, aleitamento materno, agulhas e materiais intravenosos contaminados e por via sexual, destacando-se os fluidos orgânicos, como o sêmen (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 2000; VALENTE, 2002). O risco de adquirir Hepatite B por transfusão sangüínea depende da prevalência do HBV entre os doadores (KUPEK, 2001).

O período de infecção do HBV, após exposição, é longo e assintomático, durando de 4 a 26 semanas (média de 6 a 8 semanas), seguido pela doença aguda, que dura de semanas a meses (POLESKY *in* HARMENING, 1992).

De acordo com (POLESKY *in* HARMENING, (1992) e STITES et al., (2000) as principais características imunológicas do HBV, que podem ser observadas na figura 1, são:

- O antígeno HBsAg aparece antes do início dos sintomas, atinge um pico máximo durante a doença e declina a níveis indetectáveis, em um período que varia, geralmente, de 3 a 6 meses.
- O antígeno HBeAg aparece no soro logo após o HBsAg, sendo indício de replicação viral.
- O anticorpo do tipo IgM do Core do vírus da Hepatite B aparece no soro antes do início dos sintomas, ao mesmo tempo em que há o aumento das transaminases séricas. Durante meses, os anticorpos IgM são substituídos por IgG anti-HBc.
- A presença do anticorpo anti-HBe indica que a infecção aguda chegou ao auge e a doença começa a declinar.
- O anticorpo do tipo IgG do anti-HBs eleva-se na fase final da doença aguda e geralmente é indetectável por algumas semanas a vários meses após o desaparecimento do HBsAg. O anti-HBs pode persistir pelo resto da vida conferindo ao indivíduo proteção imunológica.

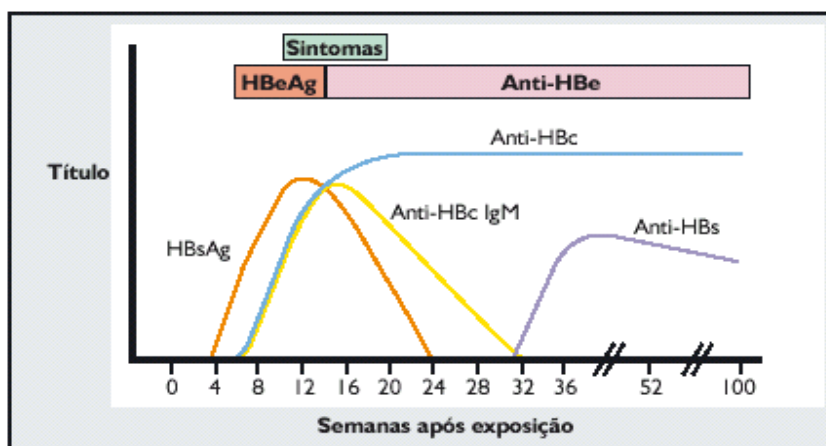


Figura 1 – Marcadores sorológicos da Hepatite B

Fonte: Disponível em: www.anvisa.gov.br/divulga/public/sangue/hemovigilancia

A Hepatite causada pelo HBV exibe altas prevalências entre os doadores de sangue (8% a 20%) no sul da Ásia, África tropical e China (WENDEL *in* FOCACCIA, 2003). Nos EUA, a prevalência entre doadores de sangue é menor que 0,1%. No Nordeste e no Centro Oeste brasileiros, as taxas são: 1,5% a 3%; na Região Amazônica, cerca de 5 a 15%. Na região Sudeste do Brasil, as prevalências são de (1-3%) entre doadores de sangue, sendo 1,5% em Campinas, 1,7% em Londrina, 1% a 2% em São Paulo e 2% no Rio de Janeiro (ANVISA, 2002). Dados da triagem dos doadores da Rede de Serviços Hemoterápicos Nacional da ANVISA (2003), apontaram, em 2002, um percentual de positividade de 0,52%.

2.2.3 Hepatite C

A Hepatite C é a principal causa das hepatites de transmissão parenteral. A hepatite pós-transfusional não-A e não-B foi reconhecida como entidade clínica nos anos 70, logo após a implantação da triagem sorológica para HBV nos bancos de sangue (VERRASTRO; LORENZI; WENDEL NETO, 2002).

O agente etiológico é um vírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, da família Flaviviridae. É um vírus com envelope lipídico, com 60nm de diâmetro, cujo genoma é constituído por uma única fita de RNA, com 9.400 nucleotídeos, codificando aproximadamente 3.100 aminoácidos, com seis principais genótipos (REVEG,

SCHIFF, 2000). As proteínas estruturais, que formam a partícula viral compreendem 809 aminoácidos, sendo compostas pela proteína do Core (região altamente conservadora) e por duas proteínas de envelope, E1 e E2. As proteínas não estruturais iniciam-se no aminoácido 810 (oitocentos e dez) da poliproteína e compreendem várias proteases (NS2, NS3, NS4A/B e NS5A), uma helicase e uma RNA-polimerase RNA dependente, necessária para a replicação genômica (NS5B). Além disso, também é encontrado uma estrutura não codificante de mais de 50 aminoácidos na região 3' do RNA (FORNS, 1998).

O período de incubação da Hepatite pelo HCV varia de 2 a 26 semanas, com uma média entre 6 a 12 semanas. O RNA do HCV é detectável no sangue uma a três semanas após a infecção, coincidindo com as elevações das transaminases séricas (CRAWFORD *in* ROBBINS, 2000).

Entre os doadores de sangue, a prevalência de anticorpos anti-HCV é de aproximadamente 0,25% nos EUA, 0,3% no Canadá e Norte da Europa, e entre 1,2% e 1,5% no Japão e Sul da Europa (ALTER, et al., *in* FOCACCIA, 2003). Nos países da Europa Ocidental, os índices variam de 0,3% a 0,8%. Em determinadas áreas da Ásia e África, 2% e 13,6%, respectivamente, revelam que os índices são elevados (ANVISA, 2003). Na hemorrede pública brasileira, a prevalência de anticorpos anti-HCV foi de 1,28% em 1993 diminuindo para 0,51% em 2002 (ANVISA, 2002).

A Hepatite C, mesmo apresentando diminuição no índice de prevalência, é uma das doenças que mais preocupa, na população de doadores, considerando os achados clínicos evidentes de que o HCV é um importante agente etiológico das doenças do fígado (WENDEL *in* FOCACCIA, 2003), sendo que nas Regiões Sul e Sudeste essa associação ocorre em aproximadamente 53,8% dos casos de hepatopatias crônicas (BRANDÃO, 1999).

2.3 Citomegalovírus

O CMV é um vírus pertencente ao gênero *Herpesvirus*, família do Herpesviridae. Seu genoma é composto por DNA de fita dupla, com capsídeo icosaédrico, revestido por um envelope composto por glicoproteínas, com 200 nm de diâmetro. O espaço entre o envelope e o capsídeo é chamado de tegumento e contém as proteínas virais (HOLBERG, 2000; AMORIN, 2003; SCHRÖEDER, 2003).

O CMV é transmitido a partir das secreções naturais, como o leite materno, material orofaríngeo (aerossóis), sêmen e secreção de cérvix uterina, podendo ser transmitido por contato hetero ou homossexual. Ainda pode ser transmitido iatrogenicamente, através de transfusões de sangue ou transplante de órgãos e tecidos (CROWE, MILLS *in* STITES et al., 2000; GRANATO, 2001).

A transmissão do CMV por transfusão ocorre por três meios: a primária, onde o CMV infecta leucócitos, sendo disseminado para todo o organismo através destas células, dando-se infecção celular a partir de vírus livre ou por disseminação viral célula a célula; por reativação, quando o CMV pode ser reativado, multiplicar-se e ser eliminado durante longos períodos de tempo sem causar sintomas; ou por reinfeção com novas cepas (geralmente em imunossuprimidos ou transplantados). Os efeitos transfusionais serão diferentes, variando de acordo com o estado imunológico do receptor (HOLBERG, 2000; VERRASTRO; LORENZI; WENDEL NETO, 2002).

A infecção causada pelo CMV é persistente, latente e recorrente, devido à permanência do CMV que se mantém latente em monócitos, em células progenitoras dos granulócitos-monócitos e em outros tipos celulares (DREW, 2003).

A prevalência da infecção varia de acordo com o nível socioeconômico: aparecendo em torno de 40% dos indivíduos, nas classes socioeconômicas mais elevadas, enquanto se aproxima de 100%, nas classes de baixo nível socioeconômico (CROWE, MILLS *in* STITES et al., 2000).

Atualmente, o CMV é considerado um dos principais patógenos que afetam o ser humano. O espectro de suas manifestações clínicas é extremamente amplo, podendo causar infecções congênitas e perinatais, infecções adquiridas na infância e idade adulta, além de ser considerado uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos (GRANATO *in* VERONESI & FOCACCIA, 2002).

Aproximadamente 50% de todos os receptores de transplantes alogênicos desenvolvem infecção por CMV, sendo que alguns desenvolvem também pneumonite intersticial (WINSTON et al., 1980). Relatos comprovam que pacientes que fizeram transplante de medula óssea têm alta mortalidade quando desenvolvem citomegalovirose (TSUCHIYA, 2001).

2.4 Infecção pelo HIV

O HIV é um retrovírus que infecta células do sistema imunológico do humano. Existem 2 tipos de HIV, o HIV I e o HIV II. O HIV I é o mais disseminado pelo mundo, sendo considerado um dos patógenos que apresenta maior variabilidade genética. Atualmente, é possível identificar mais de 10 subtipos do HIV I, compondo o grupo chamado principal (grupo M). Outro grupo, constituído por isolados divergentes, foi chamado de grupo O (“outlier”) (ABBAS; LICHTMAN & JORDAN, 2002).

O vírus da imunodeficiência humana pertence à família Retroviridae, subfamília Lentivirinae, gênero *Lentivírus*. É um vírus esférico e contém um cerne cônico contendo um genoma RNA, circundado por um envelope lipídico com 100nm de diâmetro (STITES, et al., 2000). O cerne viral contém a principal proteína do capsídeo p24, proteína do nucleocapsídeo p7/p9, 2 cópias de RNA genômico e as 3 enzimas virais/protease, transcriptase reversa e integrase). O cerne viral é circundado por uma proteína p17, que está sob o envelope do vírion. O envelope viral apresenta 2 glicoproteínas virais, a gp 120 e a gp41, cruciais para a ocorrência de infecção pelo HIV nas células. O genoma pró-viral do HIV-I contém os genes gag, pol e env, que codificam proteínas virais. Além desses três genes

retrovirais o HIV contém outros genes, incluindo o tat, rev, vif, nef, vpr e vpu/vpx, que regulam a síntese e estrutura das partículas virais infecciosas (GOH, W.C. et al, *in* ROBBINS, 2000).

A transmissão do vírus ocorre por contato sexual, podendo ser homo ou heterossexual; por transmissão parenteral do HIV, que ocorre em três grupos de indivíduos: usuários de drogas injetáveis, hemofílicos que receberam fator VIII ou IX e receptores de uma transfusão com sangue contaminado; e por transmissão vertical (da mãe para filho), durante a gravidez e/ou parto (NADLER *in* VERONESI & FOCACCIA, 2002).

O período de incubação após a infecção é de 4 a 12 semanas após as quais o antígeno já pode ser detectado. Após este período ocorre a fase aguda da infecção, pelo qual o vírus é encontrado em secreções corporais, o que pode continuar por muito tempo. Logo após a infecção aparecem os anticorpos da classe IgM e cerca de uma semana mais tarde, os da classe IgG (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE, 1997).

As infecções hemotransmissíveis têm um risco residual, calculado segundo STITES et al., (2000), conforme o quadro abaixo:

Quadro 1. Infecções transmitidas por transfusões

Infecção	Risco/Unidade transfundida
Infecção por CMV*	1:20-1:100
Hepatite C	1:3.300
Hepatite B	1:200.000
HTLV-I/II**	1:70.000
Infecção por HIV-1***	1:650.000

* CMV = citomegalovírus;

** HTLV-I/II = vírus linfotrópico de células T humanas tipos I/II;

*** HIV-1 = vírus da imunodeficiência humana-1.

Fonte: STITES et al., (2000).

2.5 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEPATITES B e C, DO CITOMEGALOVÍRUS E DO HIV

2.5.1 Hepatites

2.5.1.1 Hepatite B

O diagnóstico sorológico do agente infeccioso causador da Hepatite B é realizado por meio da detecção de três marcadores sorológicos que são: antígeno de superfície do HBV (HBsAg); o anticorpo contra o antígeno do capsídeo viral (anti-HBc) e do anticorpo contra o HBsAg (anti-HBs). Outros dois marcadores sorológicos da infecção pelo HBV, que, geralmente, não fazem parte da rotina sorológica em bancos de sangue, são o antígeno "e" (HBeAg) e o anticorpo anti o antígeno "e" (anti-HBe). Estes marcadores têm apenas valor prognóstico nos casos de Hepatite B crônica (MANUAL ANVISA, 2003).

O teste mais utilizado na detecção dos marcadores sorológicos para a Hepatite B é o ensaio imunoenzimático (ELISA). De acordo com CHAMONE; NOVARETTI & DOIRLHIAC (2001), para confirmação dos resultados HBsAg positivos, podem ser utilizados métodos de biologia molecular tipo PCR e Branched-DNA, que, no entanto, tem aplicação limitada pelo custo elevado (ANDRADE, JÚNIOR *in* VERONESI & FOCACCIA, 2002).

2.5.1.2 Hepatite C

O HCV circula no sangue em baixa concentração. A detecção de anticorpos anti antígenos específicos do HCV é o teste mais empregado para identificar a infecção. Para isso, são utilizados testes que apresentam alta sensibilidade, e testes com maior especificidade, denominados confirmatórios (BRANDÃO, 2001).

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HCV baseia-se principalmente na detecção de anticorpos reagentes anti proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos do HCV (GONÇALES, COSTA, VASSALLO, 2000). Os testes mais

comuns são realizados pela técnica ELISA, existindo testes de 1ª a 3ª geração (quadro 2), sendo estes últimos os mais utilizados em bancos de sangue (VERRASTRO; LORENZI; WENDEL NETO, 2002).

Os testes anti-HCV ELISA de 3ª geração incluem antígeno de proteína não estrutural NS5, e os de 3º geração, versão 4.0, apresentam além da NS5, a NS3 e NS4, apresentando melhor sensibilidade e especificidade no exame. Os testes anti-HCV RIBA são métodos diagnósticos confirmatórios para detectar a infecção pelo HCV e que utilizam a técnica “imunoblot recombinante” (CHAMONE; NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER, 2001).

A detecção do RNA viral através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) é considerada técnica confirmatória para a Hepatite C, porém poderá ter resultado negativo em caso de baixa viremia (CENTER FOR DISEASES, CONTROL AND PREVENTION, 2003).

Quadro 2. Proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos empregados nos ensaios imunoenzimáticos para a pesquisa de anticorpos contra o HCV

Antígeno* (região do genoma)	ELISA II	ELISA III	ELISA III Versão 4.0	RIBA II	RIBA III
5-1-1 (NS4)				X	
c100-3 (NS3-4)	X		X	X	X
c33-C (NS3)	X	X		X	X
c200 (fusão c-100-3/ c33)	X	X	X		
c22-3 (core)	X	X	X	X	X
NS5		X	X		X

* O quadro não inclui todos os antígenos registrados na literatura.
Fonte: BRANDÃO (1999) (modificado).

2.5.2 Citomegalovírus

O diagnóstico sorológico do CMV pode ser realizado por meio de testes sorológicos utilizando a metodologia do ELISA, detectando os anticorpos produzidos a partir de uma infecção por CMV do tipo imunoglobulina M (IgM) e a imunoglobulina G (IgG), ou, por meio de testes moleculares, PCR-DNA qualitativo e quantitativo e isolamento viral por antigenemia (HOLBERG,2000).

O diagnóstico de infecção por CMV, a partir do resultado de diferentes testes diagnósticos, representado no quadro 3.

Quadro 3. Diagnóstico da infecção por CMV a partir de diferentes testes laboratoriais

Testes	Infecção primária	Latência	Reativação/reinfecção
Sorologia IgG	+a	+	+
Sorologia IgM	+a	-	+ / -
Isolamento do vírus	+	+ / -	+ / -
PCR-DNA qualitativo (célula)	+	+	+
PCR-DNA quantitativo (célula)	+	+	+
PCR-DNA livre de célula (soro/fluídos do corpo)	+	-	+
Imunohistoquímica	+	-	+
Hibridização in situ (DNA)	+	-	+

a = positivo durante o período de convalescença

+ = positivo

- = negativo

+/- = positivo ou negativo

Fonte: Center UoRm apud SCHRÖEDER, 2003 (modificado)

2.5.3 HIV

A detecção do HIV utilizando-se testes laboratoriais pode ser realizada por meio da pesquisa de anticorpos, antígenos ou isolamento viral. Os testes mais utilizados são os que pesquisam anticorpos (sorológicos). O aparecimento de

anticorpos detectáveis pelos testes sorológicos mais utilizados ocorre cerca de 3 a 10 semanas após a infecção (CROWE *in* STITES, 2000).

A Portaria do Ministério da Saúde nº 488/98 (BRASIL, 1998) estabeleceu procedimentos seqüenciados:

- Etapa I – triagem sorológica (ANEXO 4);
- Etapa II – confirmação sorológica pelo teste de imunofluorescência indireta para HIV (IFI/HIV-I);
- Etapa III – confirmação sorológica pelo teste de Western Blot (WB/HIV-I).

A coleta de uma segunda amostra e repetição da etapa I, é obrigatória para confirmação da positividade da primeira amostra. Caso o resultado dos testes da segunda amostra seja negativo, ou indeterminado, deverá ser cumprida a etapa III, descrita anteriormente (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2003).

Segundo a Portaria 488 do Ministério da Saúde (1998), torna-se obrigatório também, utilização de dois testes com princípios metodológicos e/ou antígenos distintos (lisado viral, antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos) na triagem sorológica para detecção de marcadores do HIV.

Recentemente, os bancos de sangue inseriram em suas rotinas sorológicas, um teste combinado que detecta ao mesmo tempo antígeno e anticorpo do HIV, diminuindo a janela imunológica do HIV para 22 dias (BINSBERGEN, 1998).

Em 2004, a Portaria do Ministério da saúde nº 112 determinou a implantação, na Hemorrede Nacional, a realização dos testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAT), para HIV e HCV, em todas as amostras de sangue de doadores, visando diminuir o risco residual e aumentar a segurança transfusional (BRASIL, 2004).

2.6 Avaliação do Risco Residual

O risco residual de uma infecção depende de quatro fatores principais: sensibilidade do método; incidência, em que deve ser observada a necessidade de doações múltiplas e seriadas e ter um grande número de doações; duração da janela imunológica, cujos valores estão descritos no quadro 4 (KORELITZ, 1997).

Um grupo Europeu, integrante da "European Plasma Fractionation Association (AEFP), constituído pela França, Alemanha, Escócia, Bélgica, Suíça, entre outros, avaliando o período entre 1990 a 1996, verificaram índices de variação do risco de transmissão de HIV entre 0,3 e 4,4/100.000 doadores em 90 e entre 0,0 e 1,3/100.000 doadores em 96, indicando tendência à estabilização do índice de positividade. Para o HCV os índices apresentados foram de 13,4 a 111/100.000 em 1991 e 0,2 a 32 /100.000 doações em 1996. Para HBsAg, os índices decresceram ao longo do tempo (MULLER-BREITKREUTZ; EVERS; PERRY, 1998).

Quadro 4. Período de janela imunológica (em dias) de acordo com a metodologia utilizada nos testes de triagem sorológica para detecção de infecção/doença em doadores de sangue

Infecção/Doença	Teste	Janela (Dias)
HBV	ELISA - HBsAg	59
	ELISA – anti-HBc	80 a 90
	NAT - DNA	34
HCV	ELISA – Ac (2ª geração) Ac (3ª geração)	82 52
	ELISA - Ag	14 a 17
	NAT – RNA*	11 a 14
HIV	ELISA – Ac (IgG)	28 a 30
	ELISA – Ac (IgM)	22
	ELISA – Ag NAT – RNA*	16 a 17 9 a 11

* Limiar de detecção de 50 cópias/ml.

Fonte: ANVISA (2003)

O risco residual para HIV existe também, devido a outros fatores que não os associados ao período de janela imunológica, tais como, erros analíticos, além da experiência imunológica individual de portadores crônicos da doença que não desenvolvem anticorpos (PILLONEL & SAURA, 1998).

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo soroepidemiológico verificando a soroprevalência dos marcadores das Hepatites virais B e C, de anti-HIV e de anti-CMV em doadores voluntários de sangue, avaliando assim a segurança transfusional no Hemocentro Regional de Lages.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1- Conhecer o perfil do doador de sangue, da Região Serrana de Santa Catarina, considerando a influência de variáveis demográficas: sexo, idade, raça, grau de instrução, estado civil, tipo de doador (número de doações).

2- Determinar a soroprevalência para Hepatite B e C e HIV por meio de testes sorológicos utilizados na triagem dos doadores de sangue.

3- Determinar a soroprevalência do CMV por meio de testes sorológicos para anticorpos IgG e IgM nos doadores de sangue.

4- Verificar a correlação entre os resultados dos testes sorológicos para Hepatite B e C, CMV e HIV nos doadores de sangue.

5- Determinar o índice de risco residual da transmissão das Hepatites B e C, e de HIV I/II por transfusão sanguínea, na Região Serrana.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

Este foi um estudo observacional descritivo retrospectivo, que analisou frações de sangue dos doadores, as quais foram utilizadas na triagem sorológica dos doadores, para avaliar a soroprevalência dos marcadores de Hepatite B e C e de HIV, avaliando também a soroprevalência dos marcadores para CMV que não fazem parte da triagem sorológica em bancos de sangue.

4.2 POPULAÇÃO EM ESTUDO

A população de referência foi composta de indivíduos com idade entre 18 e 65 anos, que compareceram à Hemorrede para a doação de sangue no período de janeiro de 2000 a janeiro de 2004 .

1- Para determinar a soroprevalência dos marcadores sorológicos da Hepatite B, C, do HIV-I/II, verificar a correlação entre os marcadores sorológicos estudados e conhecer o perfil dos doadores de sangue, da Região Serrana, foram estudados 2968 (quadro 5).

2- Para determinar a soroprevalência dos marcadores sorológicos para o CMV, estudou-se 1045 indivíduos no período de 01 janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2003.

3- Para determinar o risco residual das Hepatites B e C e do HIV, foram analisados os resultados sorológicos de 24969 doadores aptos, no período de 01 janeiro de 2000 a 31 de dezembro de 2003.

Quadro 5. População de estudo

Objetivos	Nº de amostras	Período
Conhecer o perfil dos doadores de sangue, da Região Serrana	2 968	01.08.03 a 31.01.04
Determinar a soroprevalência dos marcadores sorológicos da Hepatite B, C, do HIV-I/II		
Determinar a soroprevalência para CMV	1 045	01.08.03 a 31.01.04
Determinar o risco residual das Hepatites B e C e do HIV	24 969 (4857)	01.01.00 a 31.01. 03

4.3 CRITÉRIO DE SELEÇÃO DA POPULAÇÃO EM ESTUDO

De acordo com as normas do Ministério da Saúde (RDC 153/04), os candidatos à doação de sangue são submetidos, inicialmente, a uma triagem clínica (verificação dos sinais vitais, exames hematemétricos, antropométricos e a entrevista) realizada por profissionais da saúde, qualificados. As entrevistas foram realizadas por enfermeiras treinadas para tal função, em sala apropriada, mantendo a privacidade do diálogo (ANEXO 2). Neste estudo, foram selecionados todos os indivíduos que compareceram ao Hemocentro com o objetivo de doar sangue e que foram considerados aptos pelo serviço de triagem clínica, no período pré-estabelecido.

4.4 INSTRUMENTOS DA PESQUISA

A entrevista, que faz parte da triagem clínica, a triagem sorológica e o sistema informatizado Hemosis, com os módulos laboratoriais e o ciclo do sangue, de onde foram retiradas as informações necessárias, assim como os resultados de exames, para a montagem do banco de dados, constituíram os instrumentos da pesquisa.

4.5 VARIÁVEIS EM ESTUDO

As informações sobre as variáveis foram retiradas do cadastro e da entrevista feita na triagem clínica as quais estão listadas e definidas a seguir:

- Idade: estimada em anos, através da diferença entre a data da entrevista e data do nascimento.
- Sexo: categorizado como masculino ou feminino.
- Raça: definida, através da observação do entrevistador, como branca, parda ou negra.
- Escolaridade: classificada como ensino fundamental, ensino médio, superior e pós-graduados.
- Estado civil: categorizado como solteiro, casado, divorciado ou viúvo.
- Naturalidade: cidade em que nasceu.
- Tipo de doador: referente ao número de doações, se foi a primeira ou é doador de repetição, e, caso seja, quantas doações fez até o período da coleta de dados.

4.6 DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA

Para um real dimensionamento da amostra, analisou-se o número de doadores aptos, atendidos no Hemocentro, mês a mês, no período compreendido entre 1º de agosto de 2003 a 31 de janeiro de 2004, obtendo-se um total de 3649 doadores. Foram retiradas do estudo, as amostras de doadores que doaram mais de uma vez no período estudado, para que não houvesse interferência no cálculo das soroprevalências, correlação dos marcadores estudados e caracterização do perfil do doador de sangue, totalizando 2968 amostras de sangue.

Para o estudo do risco residual das Hepatites e do HIV, foram analisadas as amostras de sangue de 24.969 doadores aptos.

4.6.1 Caracterização da Amostra

O material biológico utilizado foi o sangue, coletado por venopunção, ao término da coleta da bolsa de sangue, retirado 10 mL em tubo de ensaio seco, e enviado para o laboratório de sorologia onde foi processado. O sangue foi centrifugado e o soro separado em 2 aliquotas: uma acondicionada em tubos plásticos (eppendorff) com tampa e armazenada a -20 C até a realização dos testes sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-CMV IgG e anti-CMV IgM. A outra alíquota foi acondicionada em tubo de ensaio para a rotina sorológica dos exames preconizados pela legislação, entre eles o anti-HIV por dois métodos com princípios distintos, o anti-HCV, HBsAg, e anti-HBc.

No caso de positividade na triagem sorológica, o doador foi convocado, pelo setor de ambulatório, a coletar uma 2ª amostra de sangue, em 2 tubos, 1 de 10 mL, tubo seco, e o outro de 5mL com anticoagulante. O método ELISA foi repetido no setor de sorologia do Hemocentro para todos os exames com resultado indeterminado ou positivo na 1ª amostra, sendo que nos casos de anti-HBc positivo, foi realizado o anti-HBs destas amostras. Para os testes de anti-HCV e anti-HIV-I/II enviou-se parte do soro e o tubo com anticoagulante para o HEMOSC Coordenador,

em Florianópolis, para a realização dos exames confirmatórios. As amostras foram, anteriormente, devidamente identificadas, congeladas e embaladas.

4.7 TESTES REALIZADOS NO LABORATÓRIO DE SOROLOGIA DO HEMOCENTRO

Os métodos empregados foram os testes ELISA para triagem sorológica realizados no Hemocentro Regional de Lages e WB e/ou PCR para os confirmatórios para anti-HIV I/II e anti-HCV, realizados no HEMOSC Coordenador em Florianópolis. Seus princípios e técnicas variam de acordo com os reagentes antigênicos empregados.

4.7.1 Testes de triagem sorológica

A seguir estão descritos todos os testes que foram utilizados na triagem sorológica, com suas respectivas marcas e procedências. Os procedimentos para cada marcador estudado estão descritos no ANEXO 5 (técnicas Laboratoriais). Os lotes dos kits e os aparelhos utilizados na execução dos testes estão descritos no ANEXO 6.

Para Hepatites virais:

- Determinação do HBsAg: Hepanostika® - HBsAg Uni-form II - Biomérieux
Procedência: Boxtel, NL, Holanda.
- Determinação do anti-HBc: Hepatitis B Virus Core Antigen (recombinant)
ORTHO® HBc ELISA Test System Ortho- Clinical Diagnostics
Procedência: Raritan, New Jersey, USA.
- Determinação do anti-HBsAg: Hepanostika® - Anti-HBs New - Biomérieux
Procedência: Boxtel, NL, Holanda.
- Determinação do anti-HCV: Murex® anti-HCV -version 4.0- Murex - Biotech

Procedência: Kyalami , África do Sul.

Para o HIV:

- Determinação do anti-HIV-I/II, Antígeno Recombinante: Human Immunodeficiency Virus Types 1 and 2 (HIV-1 and HIV-2) ORTHO® HIV-1/HIV-2 Ab-Capture ELISA Test System Ortho-Clinical Diagnostics
Procedência: Raritan, New Jersey, USA.
- Determinação do anti-HIV-I/II, antígeno HIV-1 e anticorpo anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Vironostika® HIV Uni-formII Ag/Ab. Biomérieux
Procedência: Boxtel, NL, Holanda.

Para o CMV:

- Determinação do anti-CMV IgG: Bioelisa CMV IgG -BIOKIT
Procedência: Barcelona, Espanha.
- Determinação do anti-CMV IgM: Bioelisa CMV IgM (Immunocapture) - BIOKIT. Procedência: Barcelona, Espanha.

Os doadores com amostras repetidamente positivas na primeira amostra, foram convocados pelo serviço de atendimento ao doador (SAD) a compareceram ao Hemocentro para coleta de uma 2ª amostra de sangue, na qual serão repetidos os exames de triagem e encaminhados os confirmatórios

4.7.2 Testes de repetição e confirmatórios, realizados no laboratório de sorologia do HEMOSC Coordenador, em Florianópolis

Os testes de triagem sorológica realizados no HEMOSC Coordenador em Florianópolis foram da mesma marca e fabricante que os utilizados no Hemocentro Regional de Lages.

Testes confirmatórios para Hepatite C:

- Determinação do HCV por Immunoblot: Antígeno Codificado do Vírus da Hepatite C (Antígenos recombinantes c33c e NS5; Peptídeos sintéticos 5-1-1, c100 e c22) CHIRON* RIBA* HCV 3.0 SAI. Chiron Corporation
Procedência: Emeryville, EUA.
- Determinação do HCV por RT-PCR: AMPLICOR® Hepatitis C vírus (HCV) Test, v. 2. Roche Molecular Systems.
Procedência: Branchburg, USA

Testes confirmatórios para HIV:

- Western Blot: HIV-I/I: RT-PCR: detecção do RNA do HIV. Cambrigde Biotech. Calypte Biomedical. Procedência: Rockville, Maryland, EUA.

4.8 PRINCÍPIOS DOS TESTES REALIZADOS PELO MÉTODO ELISA

A seguir estão descritos os princípios dos testes ELISA que foram utilizados no estudo, com suas respectivas marcas.

- **Determinação do HBsAg: Hepanostika® - HBsAg Uni-form II (Organon Teknika):** para a determinação qualitativa do antígeno de superfície da Hepatite B sub-tipos ad e ay, em soro ou plasma, as cavidades da microplaca são sensibilizadas com anti-HBs monoclonal de camundongo. Cada cavidade da microplaca contém uma esfera com conjugado de anticorpos de carneiro anti-HBs marcados com peróxido de rábano (HRP), TMB (tetrametilbenzidina) e o peróxido de hidrogênio são utilizados como substrato. A presença de HBsAg se traduz por uma coloração no final do teste, proporcional à quantidade de antígeno fixada. A reação é paralisada com ácido sulfúrico (H₂SO₄), e a leitura das densidades ópticas (D.O.s) é realizada em aparelho automatizado.

- **Determinação do anticorpo anti-HBc: Hepatitis B Virus Core Antigen (recombinant) ORTHO® HBc ELISA Test System (Ortho):** é um ensaio qualitativo para a detecção de anticorpos totais para o antígeno de Core da Hepatite B (anti-HBc). As microcavidades sensibilizadas com o derivado recombinante do antígeno de Core da Hepatite B (HBcAg). A amostra é colocada na cavidade sensibilizada, onde ocorrerá ou não a ligação dos complexos antígeno-anticorpo; a seguir um anticorpo conjugado (mistura de anticorpos monoclonais de camundongo, específicos para IgG e IgM humanas) é adicionado em cada cavidade da placa; um sistema de detecção enzimático composto por o-fenilenodiamino (OPD) e peróxido de hidrogênio é adicionado às cavidades. A presença do conjugado oxidará a OPD, dando um produto colorido, cuja intensidade de cor é medida com um leitor de microplacas.
- **Determinação do anti-HBsAg: Hepanostika® - Anti-HBs New - (Organon Teknika):** as cavidades da placa de poliestireno são sensibilizadas com o antígeno de superfície de Hepatite B, constituindo o antígeno em fase sólida. A amostra para teste é incubada em uma cavidade. O anti-Hbs, caso esteja presente na amostra, liga-se ao antígeno de fase sólida. Subseqüentemente é adicionado HBsAg marcado com a enzima (HRP). Com uma reação positiva, este antígeno marcado fica ligado aos complexos anti-HBs/HBsAg em fase sólida previamente formados. A adição de substrato (TMB) forma coloração. A reação é interrompida com ácido sulfúrico para leitura.
- **Determinação do anti-HCV: Murex® anti-HCV (version 4.0) Murex - ABBOTT:** a amostra diluída foi incubada em microcavidades revestidas com antígenos altamente purificados que continham seqüências das regiões de Core, NS3, NS4 e NS5 do HCV. Na fase seguinte, foi adicionada IgG anti-humana monoclonal conjugada com peroxidase. O conjugado ligou-se ao anticorpo imobilizado na primeira etapa. Na última fase, a enzima ligada foi detectada pela adição de TMB. A intensidade da reação foi medida pela leitura da coloração desenvolvida em leitora de microplaca.

- **Determinação do anti-HIV-I/II, Antígeno Recombinante: Human Immunodeficiency Virus Types 1 and 2 (HIV-1 and HIV-2) ORTHO® HIV-1/HIV-2 Ab-Capture ELISA Test System (Ortho):** fase sólida + poços revestidos com uma combinação de 4 antígenos recombinantes HIV-1 e HIV-2: 2 de envoltório HIV-1, 1 de Core e 1 de envoltório de HIV-2.
- **Determinação do anti-HIV-I/II, antígeno HIV-1 e anticorpo HIV-1 e HIV-2: Vironostika® HIV Uni-formII Ag/Ab:** antígenos-HIV e anticorpos HIV-1 e HIV-2 acoplados à peroxidase de rábano (HRP) serve como conjugado com tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido como substrato. Cavidades microelisa revestidas com HIV-1 gp160, peptídeo HIV-1 ANT70, peptídeo HIV-2 env (aminoácidos 592-603) e HIV-1 p24.
- **Determinação do anti-CMV IgG: Bioelisa CMV IgG (Biokit):** é um teste ELISA para detecção de anticorpos IgG anti-CMV no soro humano. São adicionadas amostras diluídas às cavidades de uma microplaca recobertos com o antígeno de CMV e Em seguida, lava-se a microplaca para eliminar a amostra residual e adicionam-se anticorpos anti-IgG humana marcados com uma enzima (conjugado). Após a incubação e processo de lavagem, acrescenta-se o substrato e o ácido, conforme descrito anteriormente, nos demais testes.
- **Determinação do anti-CMV IgM: Bioelisa CMV IgM (Immunocapture) -Biokit:** as amostras diluídas são adicionadas em uma placa com poços revestidos com anticorpos de coelho anti-IgM humana. Os anticorpos tipo IgM presentes na amostra combinam-se com os anticorpos anti-IgM da fase sólida. Em seguida, a placa é lavada para extrair o material não fixado e adiciona-se o antígeno de CMV conjugado com peroxidase (HRPO). O antígeno de CMV é preparado por extração e purificação do CMV cultivado in vitro em células HEP-2. Para reduzir a reatividade inespecífica, coloca-se no conjugado um controle de antígeno que consiste em componentes celulares de HEP-2 não marcados com peroxidase.

4.9 CARACTERIZAÇÃO DO MODELO PARA CÁLCULO DO RISCO RESIDUAL

As estimativas do risco residual foram calculadas através dos resultados dos exames de sangue e dados obtidos nos protocolos dos doadores no Hemocentro Regional de Lages, segundo descrito por SCHREIBER, 1996.

O risco residual é um produto da incidência e período de janela imunológica (SCHREIBER, 1996). Em um ambiente de banco de sangue, a incidência é disponível somente para doadores de repetição para os quais uma estimativa da data de soroconversão possa ser feita como o ponto médio entre a doação soronegativa e a soropositiva. A soroconversão é definida como doação de sangue soropositiva de um doador cuja doação prévia é a transfusão, isto é, todos os testes passíveis de triagem foram negativos naquela ocasião (PILLONEL, 2002).

O método utilizado para cálculo do risco residual seguiu o modelo de SCHREIBER (1996), sendo baseado nas incidências de cada uma das infecções (HBV, HCV e HIV) nos doadores que fizeram pelo menos duas doações, por anos, entre 1 de Janeiro de 2000 e 31 de Dezembro de 2003, e nas estimativas dos respectivos períodos de janela imunológica.

O número de casos incidentes foi obtido pela contagem do número de doadores que fizeram uma doação soronegativa seguida de uma doação confirmadamente soropositiva para um dos marcadores (HBsAg, anti-HCV e anti-HIV).

O anticorpo anti-HBc seria um marcador mais sensível que o HBsAg para detectar todos os casos incidentes de HBV, mas a sua falta de especificidade e a ausência de um teste de confirmação, tornou-o inadequado para este objetivo. Assim, foi feito um ajuste ($P = S \ 0.70 + 0.05$), explicado no tópico sobre risco residual, para ter a presença transitória do HBsAg (CANUTTI, 1998; KUPEK, 2001).

O denominador para a incidência, expresso em pessoas-ano, foi calculado pelo somatório dos intervalos, em dias (divididos por 365), entre a primeira e última doação de cada doador (SOLDAN, 2002).

Os períodos de janela foram obtidas na literatura. O risco residual foi estimado pela multiplicação das incidências (número de pessoas-ano) pelos períodos de janela (expressos em frações do ano) segundo modelo de SCHREIBER, (1996).

4.10 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi definido como apresentando risco mínimo, uma vez que foram utilizadas amostras coletadas para a triagem sorológica, feita por venopunção, ao término da coleta da bolsa de sangue. Criou-se um termo de consentimento (ANEXO 7) atendendo às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos, estabelecidas pela Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Obteve-se aprovação científica e ética para o projeto por parte dos Comitês de Ética em Pesquisa do HEMOSC Coordenador e da Universidade Federal de Santa Catarina, conforme Parecer Consubstanciado nº 116/03 (ANEXO 8).

Na triagem clínica, durante a entrevista, a enfermeira informou o candidato à doação sobre os objetivos e métodos da pesquisa a ser desenvolvida, apresentando o termo de consentimento, esclarecendo que a pesquisa era desvinculada da doação, sendo voluntária a participação. Caso o doador aceitasse, assinava o termo de consentimento.

4.11 PROCESSAMENTO DOS DADOS

Os dados da triagem clínica e sorológica, foram obtidos através dos resultados dos exames registrados no sistema informatizado Hemosis, que é um sistema de gerenciamento de dados desenvolvido pelo setor de informática do HEMOSC Coordenador, onde todas as informações, desde o cadastro do doador até o resultado dos exames são armazenados e interligados com os outros Hemocentros que compõem a Hemorrede.

Para o CMV foram utilizadas as informações da triagem clínica e os resultados das sorologias foram codificadas, revisadas e digitadas em um banco de dados construído com o programa Epi-Info 6.4.

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O programa utilizado para a análise dos resultados foi Stats Direct Statistical software versão 2.3.5.

O intervalo de confiança adotado foi de 95%, sendo significativos os valores de $p \leq 0,05$.

Os testes utilizados para o cálculo das variáveis foi a estatística descritiva, observada através da distribuição de frequências. Utilizou-se também os testes qui-quadrado para a análise das variáveis demográficas e para os marcadores sorológicos. Para fazer as correlações entre os marcadores sorológicos foi utilizado o teste de Correlação de Spearman.

Para o cálculo do risco residual foi usado o modelo incidência/janela imunológica utilizado nos Estados Unidos por SCHREIBER (1996) e reproduzido no Brasil por CANUTTI (1998).

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão apresentados a seguir estão divididos em cinco tópicos, de acordo com os objetivos específicos propostos neste estudo.

O primeiro tópico apresenta o perfil - características descritivas - dos doadores de sangue da Região Serrana de Santa Catarina, estando os resultados e discussão distribuídos por sexo, faixa etária, raça, estado civil, escolaridade e tipo de doador, conforme o número de doações anteriores.

O segundo tópico refere-se à soroprevalência dos marcadores para Hepatite B e C, e para HIV I/II, nos doadores de sangue, apresentando a prevalência de cada marcador e suas inter-relações com as variáveis demográficas estudadas.

O terceiro tópico refere-se à soroprevalência do CMV através de anticorpos IgG e IGM nos doadores de sangue, apresentando a prevalência de cada marcador e suas inter-relações com as variáveis demográficas estudadas.

O quarto tópico apresenta a correlação entre os marcadores sorológicos para CMV, Hepatite B e C e para HIV.

O quinto e último tópico dispõe sobre o cálculo do risco residual da transmissão das Hepatites B e C e do HIV.

TÓPICO I

5.1 PERFIL DO DOADOR DE SANGUE

5.1.1 Análise Descritiva da População

A população de estudo para caracterização do perfil dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages (HRL) foi de 2968 doadores. Vale ressaltar que, das 3649 doações registradas no período pré-estabelecido, 649 registros eram de doadores que já haviam doado no período do estudo, sendo retirados para não haver sobreposição na caracterização do perfil dos doadores de sangue da Região Serrana. Outras duas amostras foram retiradas do estudo, tendo em vista a não autorização dos candidatos à doação na inclusão de sua amostra de sangue na pesquisa e trinta amostras tornaram-se prejudicadas por falta de algum registro no sistema Hemosis.

As tabelas de 1 a 5 representam as características demográficas consideradas no estudo. Dos 2968 doadores que compõem a população em estudo, 66,8% pertencem ao sexo masculino e 33,2% ao sexo feminino, estando representados na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de frequência segundo a variável sexo dos doadores de sangue do HRL

Sexo	Quantidade	Porcentagem
Feminino	986	33,2%
Masculino	1982	66,8%
TOTAL	2968	100,0%

A tabela 2 representa a faixa etária dos doadores entrevistados, considerados aptos à doação. A faixa etária predominante foi a situada entre 18 a 25 anos com 36,3%, seguida da faixa de 26 a 35 anos com 31,1%. A idade compreendida entre 26 a 45 anos, obteve um percentual de 21,9%. No conjunto, observaram-se percentuais consideravelmente menores na faixa etária de 46 a 55 anos (9,3%) e na de 56 a 65 anos com 1,1%.

Tabela 2. Distribuição de frequência segundo a variável faixa etária dos doadores de sangue do HRL

Faixa etária	Quantidade	Porcentagem
Entre 18 e 25 anos	1079	36,3%
Entre 26 e 35 anos	923	31,1%
Entre 36 e 45 anos	649	21,9%
Entre 46 e 55 anos	275	9,3%
Entre 56 e 65 anos	32	1,1%
Outros*	10	0,3%
TOTAL	2968	100,0%

* Inclui indivíduos em casos de situação especial, com idade inferior a 18 anos e superior a 65 anos e com autorização médica para doarem sangue.

Fonte: Dados da pesquisa

A tabela 3 revela o predomínio de doadores do sexo masculino em todas as faixas etárias, apresentando valores acima de 60%.

Tabela 3. Distribuição de frequência segundo as variáveis faixa etária e sexo dos doadores de sangue do HRL

Faixa Etária	Sexo				Total	
	Masculino		Feminino			
Entre 18 e 25 anos	687	63,7%	392	36,3%	1079	100,0%
Entre 26 e 35 anos	641	69,4%	282	30,6%	923	100,0%
Entre 36 e 45 anos	430	66,3%	219	33,7%	649	100,0%
Entre 46 e 55 anos	193	70,2%	82	29,8%	275	100,0%
Entre 56 e 65 anos	24	75,0%	8	25,0%	32	100,0%
Outros*	7	70,0%	3	30,0%	10	100,0%
TOTAL	1982	66,8%	986	33,2%	2968	100,0%

Observa-se na tabela 4 a ocorrência dos doadores entrevistados segundo a raça, o grau de escolaridade e estado civil. Houve predomínio da raça branca com 84,7% de indivíduos. Quanto ao grau de escolaridade, 40,6% possuíam nível fundamental e 38,5% possuem o ensino médio. Em relação à variável estado civil, os casados representaram 48,3%, seguidos dos solteiros com 47,2%, não havendo diferença significativa entre as duas classes.

Tabela 4. Distribuição de freqüência da raça, grau de escolaridade e estado civil dos doadores de sangue do HRL

Características	Quantidade	Porcentagem
Raça		
Branca	2513	84,7%
Negra	25	0,8%
Parda	430	14,5%
TOTAL	2968	100,0%
Escolaridade		
Analfabeto	8	0,3%
Ensino Fundamental	1205	40,6%
Ensino Médio	1142	38,5%
Ensino Superior	568	19,1%
Pós-graduação	25	0,8%
Não informada	20	0,7%
TOTAL	2968	100,0%
Estado Civil		
Solteiro	1400	47,2%
Casado	1434	48,3%
Divorciado	104	3,5%
Viúvo	18	0,6%
Não informada	12	0,4%
TOTAL	2968	100,0%

Quanto ao tipo de doador, representado pelo número de doações, a tabela 5 mostra os resultados obtidos no estudo. A maioria, 72,5%, foi considerada doador de repetição, sendo os restantes 27,5% representados pelos que doaram pela

primeira vez. Entre 2 a 6 doações obteve-se a maior porcentagem com 54,6%, de 7 a 10 doações, 12%; mais de 11 doações, somente 5,9%.

Tabela 5. Distribuição de frequência, segundo a variável número de doações dos doadores de sangue do HRL

Número de Doações	Quantidade	Porcentagem
1ª doação	817	27,5%
2 a 6 doações	1620	54,6%
7 a 10 doações	357	12,0%
Mais de 11 doações	174	5,9%
TOTAL	2968	100,0%

Dos 6844 candidatos que compareceram ao Hemocentro para o ato de doar sangue, no período estabelecido do estudo, 53,3% foram considerados inaptos na triagem clínica, permanecendo 3649 aptos, sendo coletada a bolsa de sangue e amostras laboratoriais, seguindo as etapas subseqüentes do ciclo do sangue. A inaptidão na triagem clínica não é objeto de estudo, porém vale a pena ressaltar o seu alto índice, sendo as causas mais freqüentes, segundo o relatório do HEMOPROD, anemia, alimentação gordurosa, hipotensão arterial, manifestações gripais (HEMOSC, 2003).

Quanto ao sexo, 66,8% dos doadores estudados eram do sexo masculino e 33,2% do sexo feminino. A predominância do sexo masculino também foi constatada em outros estudos como o de KUPEK (2001), que relatou percentual de 83% em Florianópolis, no período de 1991-1996; PALTANIN, REICHE (2002), em Londrina (PR) que verificou 75,6% no período de 1997-1999. VALENTE, (2002), em Ribeirão Preto (SP), relatou 83,6%, e a ANVISA, em seu relatório de 2002, demonstra 79,64% no Norte do País; 74,70%, no Nordeste; 82,4% no Centro-Oeste; no Sudeste 68,3% e no Sul, 67,80%. Em 2002, MACEDO fez um estudo no Rio de Janeiro em mulheres sobre o ato de doar sangue e o seu significado. Os dados obtidos permitiram concluir que existe um sentimento de solidariedade, porém revelou dificuldades na doação, pela dupla jornada de trabalho e a dificuldade de acesso aos serviços de coleta. Este estudo divergiu dos dados obtidos por VALENTE (2002) em relação ao número reduzido de doadores do sexo feminino.

Segundo a autora, esta redução poderia ser explicada por alguns fatores, tais como a gestação, menstruação, anemias ou medo de agulhas. A autora enfatizou ainda que estudos específicos são necessários para elucidar essa questão. Em 2003, CANÇADO, constatou no estudo realizado em São Paulo, o aumento da participação feminina: de 15,78% em 1998 para 23,83% em 2002.

O percentual de doadores do sexo masculino encontrado neste estudo é o mais baixo dos citados acima (66,8%). Provavelmente, este percentual esteja relacionado com o incentivo às doações femininas, com campanhas de incentivo especificamente direcionadas às mulheres, que o Hemocentro tem inserido na captação de doadores, fazendo parcerias com clubes de serviços e incentivando a doação feminina nas mais diferentes esferas, desde as donas de casa às universitárias, seguindo as determinações das Metas Mobilizadoras do Ministério da Saúde que prevê um incremento de 3% ao ano, nas doações femininas. Houve um crescimento na porcentagem de doações oriundas do sexo feminino ao se comparar com um estudo realizado por BELLATO, em 1998, que verificou a prevalência do sexo masculino, de 72,57% em relação a 27,43% do feminino, estando 5,77% abaixo do valor encontrado neste trabalho, no mesmo Hemocentro.

Com relação à variável idade, a faixa etária predominante na população de doadores em estudo apresentou-se entre 18 e 25 anos com 36,3%, seguido de um percentual de 31,1% para os doadores com idade entre 26 e 35 anos. CANÇADO (2003), no período de 1998-2002, em São Paulo, (SP) encontrou 75% de doadores entre 18 e 39 anos; VALENTE, (2002), em Ribeirão Preto, encontra 35,5% na faixa etária de 26 a 35 anos; QUEIROZ, (2002), em Recife, relatou 37,48% na faixa etária compreendida entre 29 a 39 anos. No Relatório da ANVISA (2002), identificou-se 52,58% dos doadores de sangue na faixa de 18 a 29 anos. No Pará, no mesmo relatório foi descrita a idade média nacional de doadores de sangue, estando em 54% aqueles acima de 29 anos. Considerando o estudo de BELLATO (2001), que identificou um percentual de 16,03% de doadores na faixa etária entre 18 e 25 anos e 37,55% de 26 a 35 anos, no período entre 1996-1998, pode-se avaliar a diminuição da faixa etária dos doadores de sangue da Região Serrana. Este fato deve-se possivelmente ao Projeto Escola, que foi criado na Hemorrede em 1996, sendo implantado no Hemocentro de Lages em 1998, com um cronograma mensal

de eventos. Dentre eles citam-se palestras, apresentações teatrais, em escolas públicas e particulares do ensino fundamental e médio, abrindo o Hemocentro à visitação destas escolas, mostrando o ciclo do sangue e motivando os estudantes a tornarem-se doadores no futuro. Além disso, coletas externas também são realizadas nas Universidades locais, onde uma unidade móvel do Hemocentro é montada dentro da Universidade para a doação de sangue, incentivando a campanha do "Trote Solidário".

Os 10 doadores deste estudo, classificados em faixas etárias abaixo de 18 anos e acima de 65 anos, eram indivíduos em situação especial, que doaram com a devida autorização médica, conforme legislação vigente.

O grau de instrução mais freqüente entre os doadores é o ensino fundamental (1º grau, geralmente incompleto) com 40,4%. Semelhante percentual foi encontrado por QUEIROZ (2002), em Recife, com 42,09%. KUTNER (1998) em São Paulo (SP) revelou 55,61% para o "colegial incompleto" e BELLATO (2001), encontrou 59,5% no Hemocentro de Lages, caracterizado como primeiro grau incompleto e completo, demonstrando que o nível de instrução melhorou significativamente entre os doadores do Hemocentro. Porém o número de doadores é inversamente proporcional ao grau de escolaridade, ao avaliar o percentual do nível superior (19,1%) e pós-graduação (0,8%), esperava-se que, quanto mais instruído, mais informado, sabedor da importância da doação, maior seria o número de doadores.

Em relação à raça, o predomínio nesse estudo, foi de doadores brancos com 84,7%. PATINO-SARCINELLI et al., (1994), no Rio de Janeiro (RJ), obtiveram 49,2% de doadores brancos, e 50,8% de não brancos. Esta variável não tem sido muito considerada nos trabalhos publicados, pois está sujeita a interpretações as mais diversas e é difícil de ser estabelecida, com segurança, principalmente quando utilizam-se apenas as características físicas (cor) do indivíduo (BOYD *apud* KUTNER, 1998).

Do total de doadores estudados, os casados obtiveram um percentual de 48,3%, muito próximo aos dos doadores solteiros, com 47,2%. VALENTE (2002), em

Ribeirão Preto (SP), verificou também que o percentual de doadores casados foi de 55% e 36,7 de solteiros. Comparando os resultados obtidos neste estudo com os obtidos por BELLATO (2001), no mesmo Hemocentro, onde 53,17% eram doadores casados e 37,97% solteiros, observou-se alteração significativa nesta variável.

Quanto ao tipo de doador, os resultados obtidos neste estudo revelam que 27,5% das doações foram realizadas pela primeira vez, sendo 72,6% doações de repetição. Ressalta-se que para o estudo em questão, não foram separados os doadores esporádicos, que, de acordo com os relatórios mensais produzidos somam 17,68%, restando 54,92% dos doadores considerados de repetição. Este índice tem como diretriz o programa de Metas Mobilizadoras do Ministério da Saúde que prevê "Sangue com garantia de Qualidade em todo o seu processo até 2003", e considera o doador de repetição aquele indivíduo que faz doação a cada, ou no intervalo igual ou inferior a 13 meses. Uma das metas é incrementar em 6% ao ano o índice de doadores de repetição nos bancos de sangue do país. Em 1998, analisando 2475 doadores da mesma região do presente estudo, BELLATO verificou que 41,9% eram doadores de primeira doação, variável que se alterou no decorrer dos cinco anos, com a implantação da Política Nacional do Sangue e com os incentivos por meio de campanhas para a doação fidelizada, os quais fizeram com que este indicador também se alterasse no Hemocentro.

Os hemocentros de referência, como o HEMOMINAS, em Belo Horizonte (MG) trabalham para aumentar o número de doadores saudáveis e voluntários para reduzir a participação dos candidatos eventuais e para contar com doadores fidelizados. Para isto, buscam conhecer as características específicas do grupo de doadores para compará-las com aquelas presentes na população em geral, estudando estratégias para captar doadores e torná-los fidelizados. VERTCHENKO (2004), no período de 1994 a 1998 fez um estudo, em que os resultados apontaram um novo perfil de doador de repetição:

Os doadores regulares de sangue em geral não são pessoas de mais idade, aposentados, desocupados ou donas de casa. Justamente o contrário. Geralmente são jovens (aproximadamente 84% com menos de 40 anos), do sexo masculino (74,4%), solteiros, alfabetizados e inseridos no mercado de trabalho (VERTCHENKO, 2004, p.12).

A Fundação Pró-Sangue, do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, responsável por 53% do sangue transfundido na região metropolitana de São Paulo, 24%, do Estado e 14% do Brasil, também investe no incentivo ao doador de repetição através de várias campanhas e matérias em jornais, como a transcrita a seguir, por MAYRINK (2003, p.21):

(....) a Fundação Pró-Sangue, do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, está fazendo uma campanha para aumentar o número de doadores de repetição - ou doadores fiéis, que se apresentam espontaneamente e com frequência - porque isso garante a boa qualidade e o melhor aproveitamento do sangue.

Segundo um estudo realizado pela Fundação Pró-Sangue (São Paulo), que analisou o índice de descarte sorológico no período 1991 a 2001, houve uma diminuição de 20% para 9% no descarte de bolsas de sangue em decorrência de doenças infecciosas entre os doadores e que esta diminuição estaria associada às doações de repetição (OTANI; SALLES & BARRETO et al., 2003).

Os dados publicados pela ANVISA (2003), sobre a produção da rede hemoterápica (2000 a 2002), apresenta variações nos índices de doadores de repetição, entre os estados: Santa Catarina, com 46,94%; Rio Grande do Sul, 67,4%; Paraná, com 47,8%; São Paulo, com 42,18% e Amazonas com 73,17%. Esta variabilidade é, provavelmente, influenciada por características sócio-culturais e pela existência de campanhas de doação mais ou menos ativas.

Outros estudos, como o de BRANDÃO (1999), confirmam que os candidatos à primeira doação de sangue oferecem maior risco de apresentar alguma doença infecciosa, transmissível pelo sangue, do que os doadores de repetição. Tal associação justifica-se porque, à medida que são detectados doadores portadores de doenças hemotransmissíveis, estes são excluídos como candidatos à doação e, portanto, reduz-se a possibilidade de que doadores habituais sejam positivos para alguma doença. Em Coimbra (Portugal), um estudo realizado por MUON (2003), apresentando alta taxa de inaptidão na triagem clínica e sorológica (45,2%), em doadores de primeira doação, demonstrou a importância da monitorização contínua da população de doadores para incentivar o doador de repetição a retornar àquela instituição para doação.

Foi observada também uma tendência à diminuição de doadores, com o aumento do número de doações, variando de 54,4% com 2 a 6 doações, 12% com 7 a 10 doações e 5,9% com mais de 11 doações. Dado importante para ser trabalhado no sentido de incentivar o doador a retornar ao Hemocentro para doação de sangue com maior frequência, respeitando o intervalo preconizado pela legislação (BRASIL, 2004).

As principais alterações encontradas neste estudo, revelam um aumento significativo da participação feminina na doação de sangue, mesmo tendo o predomínio do sexo masculino, o percentual de mulheres aumentou, comparando com estudos anteriores (BELLATO, 1998). Revelam também um incremento na doação por jovens, demonstrando que estão mais solidários e altruístas e a fidelização dos doadores de primeira vez, tornando-os doadores de repetição, conscientes para a doação espontânea de sangue. Tais resultados ampliam o conhecimento sobre a importância de ações educativas demonstrando que é possível promover mudanças no comportamento das pessoas que doam sangue, e através destas mudanças, alterar a realidade hemoterápica do país, por meio da educação da população com campanhas que preparem as crianças e jovens para uma futura doação de sangue consciente e responsável. O presente estudo afirma também a importância da escolha da população de doadores, pois dessa escolha também depende a segurança transfusional, sendo estratégico formar grupos de doadores que ofereçam menores riscos de transmissão de doenças por transfusão. E a fidelização do doador de primeira vez, tornando-o de repetição, contribui para o aumento do estoque de hemocomponentes e para a diminuição do índice de rejeição clínica e sorológica, diminuindo o custo operacional e aumentando a segurança.

TÓPICO II

5.2 SOROPREVALÊNCIA PARA OS MARCADORES SOROLÓGICOS DAS HEPATITES B, C E DO HIV-I/II

5.2.1 Soroprevalência para os Marcadores sorológicos das Hepatites B e C

Na tabela 6 estão representadas as soroprevalências dos marcadores para a Hepatite B (HBsAg, anti-HBc e anti-HBs). Verifica-se a soroprevalência de 0,17% (IC_{95%} 0,02 - 0,36) para o marcador HBsAg, nos doadores de sangue, no período estudado, apresentando 2 (duas) amostras inconclusivas que não fizeram parte do cálculo.

Tabela 6. Resultados da soroprevalência para os marcadores da Hepatite B em doadores de sangue do HRL

Prevalência	Marcador Hepatite B					
	HBsAg		anti-HBc		anti-HBs	
	n	%	n	%	n	%
Positivo	5	0,17	44	1,48	26	65,0
Negativo	2961	99,83	2923	98,52	14	35,0
TOTAL	2966	100	2967	100	40	100

Quanto ao marcador anti-HBc, a soroprevalência foi de 1,48% (IC_{95%} 1,05-1,92) nas amostras testadas, apresentando uma amostra inconclusiva, que não fez parte do cálculo da soroprevalência.

Em relação ao anti-HBs, é importante salientar que os exames para este marcador são realizados somente nos resultados que tenham anti-HBc positivo e HBsAg negativo. O total de amostras foi de 40, observando que uma amostra apresentou resultado inconclusivo, e para outras três, os doadores não retornaram para coletar a 2ª amostra. Do total de 40 doadores, 26 (65%) já estavam imunizados para a Hepatite B.

Em relação à distribuição de frequência das variáveis descritivas (sexo, escolaridade, faixa etária e número de doações) e o resultado positivo para o marcador HBsAg da pesquisa realizada, a predominância foi de doadores do sexo masculino, com ensino fundamental, entre 18 e 35 anos e todos doaram pela primeira vez. As características dos doadores soronegativos foram semelhantes aos da população soropositiva, diferindo apenas quanto ao número de doações sendo os soronegativos doadores de repetição.

A soroprevalência do marcador da Hepatite C, o anti-HCV, está representada na tabela 7, apresentando uma soroprevalência de 0,20% (IC_{95%} 0,04 - 0,36). As amostras inconclusivas para o ELISA anti-HCV foram em número de 4 (quatro) e não estão incluídas no cálculo.

Tabela 7. Resultados da soroprevalência para os marcadores da Hepatite C nos doadores de sangue do HRL

Prevalência	Marcador Hepatite C	
	anti-HCV	
	n	%
Positivo	6	0,20
Negativo	2958	99,80
TOTAL	2964	100%

Quanto à distribuição de frequência das variáveis em relação ao resultado para o marcador anti-HCV da pesquisa realizada, não se observou diferença em

relação ao sexo dos doadores com o marcador anti-HCV positivo (três masculinos e três femininos). O ensino fundamental foi predominante, a idade variou de 18 a 45 anos e todos doaram pela primeira vez.

As características predominantes da população soronegativa de doadores para anti-HCV foram: sexo masculino, escolaridade equivalente ao ensino fundamental, faixa etária entre 18 a 25 anos e predominância de doadores de repetição.

No Estado de Santa Catarina existem poucos estudos referentes à prevalência de marcadores da Hepatite B e C, em especial para doadores de sangue. Pode-se citar o de VASCONCELOS et al., (1994), que determinou em 5000 amostras no ano 1991, a soroprevalência de HBsAg, anti-HBc e anti-HCV, respectivamente, de 0,78%, 13,98% e 1,14% na triagem sorológica. TREINTINGER; SPADA (2000), estudaram 2583 doadores de sangue em Florianópolis (SC), nos anos de 1994 e 1995, para os marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HCV. As prevalências encontradas foram, respectivamente, 1%, 9,3% e 0,7%. E ROSINI et al., (2003), relataram a diminuição da soroprevalência de Hepatite B em doadores de sangue de Santa Catarina entre 1999 a 2001, com valores de HBsAg 0,98% para 0,64%; para anti-HBc, de 8,83% para 5,35% e para anti-HCV, de 0,38 para 0,34%, respectivamente. Estes índices indicam que as soroprevalências para marcadores de Hepatite B e C, nos doadores de sangue, no Estado de Santa Catarina estão diminuindo.

No presente estudo, verificou-se a soroprevalência dos marcadores HBsAg, anti-HBc e anti-HCV em doadores de sangue no ano de 2003, na Região da AMURES, resultando em 0,17% para o HBsAg, valor este bem inferior aos índices dos outros Hemocentros de Santa Catarina, como o de Chapecó, no Oeste Catarinense, que, no ano de 2002, atingiu 1,1%; em Florianópolis, no litoral, 0,6%; em Joinville 0,53%, obtendo a média de 0,62% da Hemorrede (HEMOSC, 2003). Em relação ao marcador anti-HBc, o percentual obtido neste estudo foi de 1,48% enquanto nos outros Hemocentros do Estado, os índices foram superiores, tais como em Chapecó, de 6,71%; Florianópolis, de 3,2%; Joinville, de 5,03%, estando a média da Hemorrede em 3,99%. Avaliando o anti-HCV verificou-se a

soroprevalência de 0,20%, com variação, em 2002, de 0,9% em Criciúma; 0,6% em Florianópolis e 0,1% em Chapecó (HEMOSC, 2003).

Comparações semelhantes podem ser feitas, em outros Estados, onde se pode observar a diminuição das soroprevalências para as Hepatites B e C em doadores de sangue, como demonstrado no estudo de SÄEZ-ALQUÉZAR et al., (1994), em São Paulo (SP), que obtiveram 1% de positividade para HBsAg e 1,52% para anti-HCV em 62.615 doadores de sangue (SÄEZ-ALQUÉZAR, 1998). Também em São Paulo (SP), SALLES et al., (2003), em 2001, triaram 9942 amostras de doadores obtendo a prevalência de 0,14%, para HBsAg, 1,10% para o anti-HBc e 0,21% para o anti-HCV. Em 2002, na cidade de Ribeirão Preto (SP), foram estudados 25.891 primodoadores (doadores de primeira doação). Na triagem sorológica, a positividade foi de 0,63% para HBsAg; 8,7%, para o anti-HBc e 1,15% para o anti-HCV (VALENTE, 2002), que, após confirmação, ficou semelhante à citada em ROSINI, et al., (2003) com 0,22% para o anti-HCV. Estes índices indicam que a soroprevalência na Região Sudeste está diminuindo significativamente, assim como no Sul do País. Esta diminuição dos índices de soroprevalência para Hepatite B e C deve-se, provavelmente, ao maior controle pelo Ministério da Saúde e ANVISA que através das Metas Mobilizadoras garantiram o sangue até 2003, com campanhas de divulgação, melhor captação de doadores, maior conscientização da importância da doação de sangue, melhoria da triagem clínica, apesar de ainda existirem pessoas que doam sangue com o intuito de receber os exames para AIDS e hepatites mais rapidamente, omitindo a verdade e tornando-se doadores aptos na triagem clínica, sem consciência da importância do ato de doar sangue.

Os marcadores estudados no Hemocentro Regional de Lages, para a Hepatite B, em especial o HBsAg, apresentaram dois resultados inconclusivos, dos quais, no decorrer da pesquisa, um doador retornou ao Hemocentro para coletar a segunda amostra, confirmando o resultado. O outro doador com resultado inconclusivo, foi considerado um caso suspeito de positividade para HBsAg, pois o mesmo não retornou ao Hemocentro para coletar a segunda amostra.

A primeira amostra inconclusiva, confirmando o marcador HBsAg positivo, apresentou um valor da DO próximo ao *cutoff*, provável fase de soro conversão em

que o título no soro estava baixo, mas ainda detectável para o marcador em estudo. O doador retornou 3 meses após a coleta da primeira amostra, quando apresentou uma DO trinta vezes maior que o valor do *cutoff* inicial.

O HBsAg apresenta algumas limitações em sua utilização na triagem sorológica como marcador específico da Hepatite B, que pode não ser detectada nos exames sorológicos em decorrência da infecção primária autolimitada. Casos nos quais se encontra o HBsAg no soro, antes de sete semanas, são geralmente assintomáticos, mas transmissíveis pelo sangue (janela imunológica). Há também a fase de janela tardia, ou do Core, considerada como o período compreendido entre o início da soroconversão do HBsAg para anti-HBs, encontrando-se o HBsAg complexado ao anti-HBs e portanto não detectável pelo método de triagem comumente utilizado. Contudo, o anti-HBc é positivo neste caso (ALMEIDA NETO et al., 2001). Pode ocorrer também a ausência do HBsAg detectável nos testes pelo método ELISA, durante a doação, porém encontrando-se na fase crônica, com níveis detectáveis para HBV-DNA, resultados observados frente a vacinações específicas para HBV. Neste caso específico o anti-HBc também é encontrado (WENDEL in FOCACCIA, 2003). E existe a possibilidade da ocorrência de mutantes do vírus. Na maioria destes casos o anti-HBc é positivo, porém existem vírus mutantes sem a produção do anti-HBc (PAPATHEODORIDIS in FOCACCIA, 2003), sendo a minoria dos casos.

Há muitas controvérsias em relação à permanência do anti-HBc na triagem sorológica, pois é o marcador mais freqüentemente encontrado na maioria dos bancos de sangue do País, e isto gera problemas, principalmente em algumas Regiões como o Norte do País e Oeste Catarinense onde a incidência de Hepatite B é alta e o descarte de bolsas por inaptidão sorológica é ainda maior (ANVISA, 2002). Há de se avaliar muito bem a retirada deste teste da triagem sorológica, pois para as Regiões não endêmicas, onde a população apresenta uma baixa incidência de Hepatite B, é um marcador bem expressivo, como se observa neste estudo, em que todas as amostras positivas e inconclusivas para HBsAg no momento da pesquisa, eram positivas para o anti-HBc. Vários estudos têm relatado esta afirmativa, como o de ARRAIS, et al., (2003), testando 1000 doadores de Recife, (PE), realizando a triagem com o marcador HBsAg pelo método ELISA, e nos

exames positivos para anti-HBc (n=120), realizaram o HBV/DNA por PCR. No referido estudo todos os HBsAg confirmados como positivos apresentaram anti-HBc positivo. Um estudo do Hemocentro e da Universidade do Amazonas, avaliando os portadores de HBV/DNA entre doadores negativos para HBsAg e positivos para anti-HBc, observaram que dos 81 doadores investigados, somente 1 (1,2%) foi positivo para o HBV/DNA (YURTSEVER, et al., 1998).

O considerável decréscimo do percentual de HBsAg positivo nos doadores, observado neste estudo, podem estar parcialmente relacionados, nos últimos anos, às campanhas de vacinação contra a Hepatite B que devem ter evitado um número substancial de novas infecções em doadores de sangue.

No que diz respeito à validade do teste anti-HBc como marcador de Hepatite B, sabe-se que a presença do anti-HBs não demonstra recuperação da infecção pelo HBV, porém, em várias situações onde o HBsAg só seria detectável por meio da biologia molecular, atualmente inviável pelo alto custo, o anti-HBc pode apresentar-se positivo, devendo permanecer como marcador na triagem sorológica. Outros testes deverão ser inseridos no mercado de forma viável e segura para diminuir os riscos de transmissão da Hepatite B através dos hemocomponentes.

Em relação ao marcador anti-HCV, a prevalência obtida nos doadores estudados foi de 0,20%, percentual semelhante ao obtido por VALENTE, (2002), em doadores de sangue de Ribeirão Preto, com prevalência de 0,22%, e ao do estudo de SALLES, et al., (2003), em São Paulo (SP), com 0,21%. O Estado de Santa Catarina apresentou um índice de 0,49% em 2002, e o Brasil um índice de 0,51%, segundo o Boletim de Produção da Rede Hemoterápica da ANVISA. Ao comparar os dados de prevalência do anti-HCV obtidos no Hemocentro e na Hemorrede, em anos anteriores, com os obtidos neste estudo, pode-se observar uma diminuição da prevalência da Hepatite B e também da Hepatite C.

O marcador anti-HCV estudado na triagem sorológica, apresentou quatro amostras inconclusivas, todas as quatro de doadores que doaram pela primeira vez, tendo sido possível avaliar, no decorrer do estudo, o retorno de dois deles e a evolução dos seus respectivos marcadores para Hepatite C.

■ Um doador retornou para coletar a segunda amostra um mês após a primeira doação e o resultado permaneceu inconclusivo. Enviada ao HEMOSC Coordenador em Florianópolis, para reavaliação, apresentou ELISA inconclusivo, RIBA e PCR negativos. Não retornando até o momento do fechamento do estudo, permaneceu considerado um caso suspeito.

■ O outro doador retornou para coletar a segunda amostra, 20 dias após a doação, apresentando ELISA positivo, foi enviada ao HEMOSC Coordenador em Florianópolis, que manteve o resultado do ELISA, com PCR negativo. Após três meses o doador retornou para controle, o mesmo resultado foi encontrado deduzindo-se provável falso positivo.

Estudos descrevem vários fatores relacionados ao resultado ELISA falso positivo no sangue doado, mencionando-se entre eles: má conservação do soro por estocagem prolongada, hipergamaglobulinemia (McFARLANE, *apud* PEDROSO), fator reumatóide, anticorpos heterófilos (THELLMANN et al., *apud* PEDROSO, 1993), erros laboratoriais pré-analíticos e analíticos. E falso negativo, através de repetidos descongelamentos, ou inativação pelo calor (SCHRUMPF et al., WONG et al., *apud* PEDROSO, 1993). Estes fatos podem ocorrer em qualquer etapa do processo, embora de difícil quantificação prática, estima-se que estes erros possam ser responsáveis por cerca de 2,9 casos a cada 10 milhões de unidades transfundidas (BUSCH *apud* FOCACCIA, 2003).

O teste utilizado na triagem do anti-HCV, foi o do método ELISA de terceira geração, versão 4.0 (Murex). Este teste é considerado altamente sensível, embora não tão específico, diminuindo a janela imunológica, aumentando a segurança, e também o número de resultados falso-positivos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003).

A diminuição das prevalências das Hepatites B e C, constatada neste estudo, demonstra que, apesar da grande incidência destas doenças no Sul do País, os bancos de sangue têm conseguido assegurar cada vez mais a diminuição dos riscos transfusionais, através de uma triagem clínica bem feita e do aumento da eficiência da triagem sorológica com testes mais sensíveis. Porém, a maior

preocupação atual está relacionada à diminuição do risco residual de transmissão de doenças virais, pela diminuição da janela imunológica. Ainda não existem testes 100% seguros, e mesmo com toda a conscientização, ainda existem pessoas que doam sangue para obter os exames mais rapidamente, ou tornam-se doadores de repetição por estar buscando algum resultado. Estes candidatos à doação, sabedores que na triagem clínica poderão ser descobertos, mentem e passam por doadores aptos, sendo estes grupos a principal ameaça que os bancos de sangue tentam combater. A revisão da triagem clínica deste doador, e a intensificação de campanhas educativas são necessárias para que, efetivamente, a doação de repetição seja o resultado de um compromisso social do doador, um gesto solidário e não uma forma de acompanhamento sorológico motivado por interesses pessoais. A esperança está nas crianças e jovens, para que cresçam desenvolvendo um espírito solidário e altruísta, incorporando a doação de sangue como um dever de cidadão.

5.2.2 Soroprevalência para Marcadores de HIV-I/II Método 1 - antígeno recombinante e Método 2 - antígeno e anticorpo peptídeo sintético.

Na tabela 8, verifica-se os marcadores para HIV-I/II, onde estão representados os dois métodos utilizados na triagem sorológica. O método 1, que utiliza antígeno recombinante, demonstrou uma soroprevalência de 0,03%, (IC_{95%} 0,00 - 0,10) e o método 2, que utiliza antígeno e anticorpo peptídeo sintético, obteve 0,10% (IC_{95%} 0,00 - 0,21). Para o método 2, verificou-se 2 amostras inconclusivas não incluídas no cálculo da soroprevalência.

Tabela 8. Resultados da soroprevalência para os marcadores do HIV-I/II nos doadores de sangue do HRL

Prevalência	Marcadores HIV-I/II			
	anti-HIV-I/II - 1		anti-HIV-I/II - 2	
	n	%	n	%
Positivo	1	0.03%	3	0.10%
Negativo	2967	99.97%	2963	99.90%
Total	2968	100%	2966	100%

Entre as variáveis e os marcadores para HIV, no método 1, as características do caso positivo foram: sexo feminino, ensino médio, idade na faixa entre 26 a 35 anos, e primeira doação de sangue. Quanto à população negativa, o predomínio foi do sexo masculino, ensino fundamental, idade entre 18 e 35 anos e eram doadores de repetição.

Em relação ao método 2, verificou-se que os doadores positivos eram do sexo masculino, ensino médio, idade entre 18 e 25 anos, havendo 1 doador de repetição. Para os soronegativos, o sexo predominante foi o masculino, escolaridade com ensino fundamental, entre 18 a 35 anos e doadores de repetição.

Para os marcadores sorológicos de anticorpos anti-HIV-I/II, as soroprevalências obtidas neste estudo foram de 0,03% para o método 1, que utiliza antígeno recombinante para o anti- HIV-I/II e de 0,10% para o método 2, que utiliza antígenos e anticorpos peptídeos sintéticos. Para SALLES et al., (2003), a soroprevalência de HIV, utilizando o método ELISA na triagem sorológica na cidade de São Paulo (SP) foi de 0,04% entre os doadores. Na Hemorrede Pública Brasileira, a prevalência de anticorpos anti-HIV-I/II, em 2002, foi de 0,49%. Na Hemorrede Estadual foi de 0,39%. Em Florianópolis, foi de 0,43% e 0,71%; Joaçaba, de 0,03% e 0,12% e Joinville de 0,39% e 0,53% para os métodos 1 e 2 respectivamente. Mesmo ocorrendo resultados falso-positivos, estes índices diminuíram em relação aos anos anteriores (HEMOSC, 2003).

Em todos os casos soropositivos ou inconclusivos para um ou para os dois métodos, foram convocados os doadores para a coleta da segunda amostra, repetição do ELISA e realização do teste complementar Western Blot (WB) no HEMOSC Coordenador em Florianópolis. Das três amostras positivas para o HIV-I/II, somente uma era positiva para os dois métodos de triagem, sendo confirmada pelo WB a positividade da reação. As outras duas, que estavam positivas para o método dois, foram negativas para o WB. O marcador para HIV-I/II apresentou duas amostras inconclusivas, sendo positivas apenas para o método 2.

Em relação aos marcadores para anti-HIV-I/II, o método ELISA 2 apresentou dois resultados inconclusivos, e, no decorrer da pesquisa, um doador retornou ao

Hemocentro para coletar a segunda amostra, quinze dias após a coleta da primeira. Novamente o ELISA continuou inconclusivo com DO próxima ao *cutoff* e foi encaminhado para o HEMOSC Coordenador onde se confirmou o resultado ELISA, com WB negativo. O doador retornou, para controle, três meses após a segunda coleta, e o resultado permaneceu o mesmo, ou seja, ELISA inconclusivo e WB soronegativo. Faz-se necessário ressaltar que este doador estava em sua quinta doação (doador de repetição), e provavelmente pode ser considerado um falso-positivo, pois o período de janela é estimado em 22 dias (quadro 4). Considerando-se que, durante a soroconversão, os primeiros anticorpos que se formam são do tipo IgM, faz-se necessário realizar um controle durante três meses, com a utilização do método ELISA que detecta IgM e IgG, sendo, portanto, mais sensível que o WB que detecta apenas anticorpos do tipo IgG. Em decorrência deste fato, é possível que a infecção verdadeira possa ser representada por ELISA positivo e WB negativo ou indeterminado (ANVISA, 2003), devendo-se aguardar outra coleta para observar a evolução dos marcadores.

Quanto ao outro doador com resultado inconclusivo, foi coletada uma 2ª amostra, vinte dias após a primeira, na qual o ELISA era positivo (2 vezes o valor do *cutoff*) tanto em Lages quanto no HEMOSC Coordenador, com valor de DO e resultados semelhantes, porém com WB soronegativo. O doador não retornou para a coleta do exame controle e era doador de primeira doação.

FERREIRA et al., (2003), comparando a capacidade de resolução dos dois métodos utilizando o WB como complementar, observaram elevação na casuística de falso-positivos. Em um estudo realizado em SÃO PAULO (SP), por OTANI et al., (2003) foram avaliadas 698191 amostras de sangue de doadores, no período de 1999 a 2001, observando-se um descarte sorológico por resultado HIV positivo em um dos dois métodos de triagem de 0,4% em 2718 amostras. Os doadores foram reconvocados e, de 1576 amostras que haviam sido consideradas HIV positivo por um método, apenas uma amostra foi positiva para o WB.

No Hemocentro e Hemorrede, a sensibilidade dos testes em populações de baixa prevalência (KUPEK, 2001.a) como a dos doadores de sangue, exige que os testes sejam cada vez mais sensíveis, e com menor probabilidade de resultados

falso-negativos, para assegurar a qualidade do hemocomponente. Precisa-se porém, estudar mais o resultado "inconclusivo" para um doador de sangue, que tem seus exames "bloqueados" e não poderá doar enquanto tiver algum marcador que ainda seja positivo. São vários os relatos, em estudos, de situações semelhantes às descritas (PEREIRA, et al., 2002). Além do desgaste emocional do doador, o descarte das bolsas nos casos de falso-positivos, gera um custo operacional para as Instituições. Necessita-se que o método 2 para anti-HIV-I/II apresente a mesma sensibilidade, porém maior especificidade.

TÓPICO III

5.3 IDENTIFICAÇÃO DA SOROPREVALÊNCIA DE CMV POR MEIO DA PESQUISA DOS MARCADORES DE ANTICORPOS DO TIPO IgG E IgM NOS DOADORES DE SANGUE

No estudo da prevalência e frequência das variáveis descritivas dos marcadores para CMV, foram analisadas 1045 amostras de sangue dos doadores, em decorrência destes testes não fazerem parte da triagem sorológica nos bancos de sangue e apresentarem alto custo para estendê-los à população proposta para o estudo. Verificou-se que este número de doadores apresentava valor significativo para o objetivo proposto.

A prevalência dos marcadores para CMV com anticorpos específicos de classe IgG e IgM, nos doadores considerados aptos, está representada na tabela 9, demonstrando 96,4% (IC_{95%} 95,23 - 97,50) de prevalência de IgG (infecção pregressa) e 2,3% para IgM (IC_{95%} 1,39 - 3,20).

Tabela 9. Resultados de soroprevalência para os marcadores anti-CMV IgG e IgM nos doadores de sangue do HRL

Prevalência	Marcadores anti-CMV			
	IgG anti-CMV		IgM anti-CMV	
	n	%	n	%
Positivo	1007	96,36%	24	2,30%
Negativo	38	3,64%	1021	97,70%
TOTAL	1045	100%	1045	100%

A tabela 10 representa a distribuição dos resultados positivos e negativos para IgG anti-CMV em relação às variáveis de controle estudadas. Em relação à positividade do anti-CMV IgG verificou-se que dos 710 doadores do sexo masculino, 96,3% eram positivos para IgG anti-CMV, e dos 335 do sexo feminino, a positividade foi encontrada em 96,4%. O ensino fundamental foi o predominante entre esses doadores. A faixa etária predominante foi de 18 a 25 anos. Os doadores de repetição, com 2 a 6 doações apresentaram o maior número de positividade.

Tabela 10. Distribuição de frequência das variáveis descritivas (sexo, escolaridade, faixa etária e número de doações) e o resultado para o marcador IgG anti-CMV nos doadores de sangue do HRL

Variáveis Demográficas		IgG anti-CMV		Total
		Positivo	Negativo	
Sexo	Masculino	684 (96,3%)	26 (3,7%)	710 (100,0%)
	Feminino	323 (96,4%)	12 (3,6%)	335 (100,0%)
	TOTAL	1007 (96,4%)	38 (3,6%)	1045 (100,0%)
Escolaridade	Analfabeto	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1 (100,0%)
	E. Fundamental	445 (97,6%)	11 (2,4%)	456 (100,0%)
	E. Médio	354 (96,2%)	14 (3,8%)	368 (100,0%)
	E. Superior	196 (94,2%)	12 (5,8%)	208 (100,0%)
	Pós-Graduação	11 (91,7%)	1 (8,3%)	12 (100,0%)
	TOTAL	1007 (96,4%)	38 (3,6%)	1045 (100,0%)
Faixa Etária	18 a 25 anos	372 (94,7%)	21 (5,3%)	393 (100,0%)
	26 a 35 anos	311 (98,1%)	6 (1,9%)	317 (100,0%)
	36 a 45 anos	217 (97,7%)	5 (2,3%)	222 (100,0%)
	46 a 55 anos	94 (94,9%)	5 (5,1%)	100 (100,0%)
	56 a 65 anos	10 (100,0%)	0 (0,0%)	10 (100,0%)
	Outros	3 (100,0%)	0 (0,0%)	3 (100,0%)
	TOTAL	1007 (96,3%)	38 (3,7%)	1045 (100,0%)
Número de Doações	1ª doação	289 (97,6%)	7 (2,4%)	296 (100,0%)
	2 a 6	551 (95,5%)	26 (4,5%)	577 (100,0%)
	7 a 10	107 (96,4%)	4 (3,6%)	111 (100,0%)
	11 ou mais	60 (98,4%)	1 (1,6%)	61 (100,0%)
	TOTAL	1007 (96,3%)	38 (3,7%)	1045 (100,0%)

Aplicando o teste qui-quadrado para cada variável descrita na tabela 10, os resultados demonstraram $p > 0,05$ para todas as variáveis estudadas, ou seja, constatou-se que o marcador anti-CMV IgG independe do sexo ($\chi^2 = 0,22$), grau de escolaridade ($\chi^2 = 4,15$), faixa etária ($\chi^2 = 9,37$) e número de doações ($\chi^2 = 3,35$).

Na tabela 11 observa-se a distribuição dos resultados positivos e negativos para IgM anti-CMV em relação às variáveis de controle estudadas. Em relação à positividade do IgM anti-CMV verificou-se que dos 24 doadores positivos, 17 eram do sexo masculino. O ensino médio obteve 16 positivos para CMV, a faixa etária entre 26 a 35 anos e o doador de repetição com 2 a 6 doações.

Tabela 11. Distribuição de frequência das variáveis descritivas e o resultado para o marcador IgM anti-CMV nos doadores de sangue do HRL

Variáveis Demográficas		IgM anti-CMV		Total
		Positivo	Negativo	
Sexo	Masculino	17 (2,4%)	684 (97,6%)	701 (100,0%)
	Feminino	7 (2,1%)	337 (97,9%)	344 (100,0%)
	TOTAL	24 (2,3%)	1021 (97,7%)	1045 (100,0%)
Escolaridade	Analfabeto	0 (0,0%)	1 (100,0%)	1 (100,0%)
	Ens. Fund.	4 (0,9%)	447 (99,1%)	451 (100,0%)
	Ens. Médio	16 (4,3%)	354 (95,7%)	370 (100,0%)
	Ens. Superior	3 (1,5%)	208 (98,5%)	211 (100,0%)
	Pós-Graduação	1 (8,3%)	11 (91,7%)	12 (100,0%)
	TOTAL	24 (2,3%)	1021 (97,7%)	1045 (100,0%)
Faixa	18 a 25 anos	8 (2,0%)	395 (98,0%)	403 (100,0%)
Etária	26 a 35 anos	11 (3,6%)	297 (96,4%)	308 (100,0%)
	36 a 45 anos	4 (1,8%)	218 (98,2%)	222 (100,0%)
	46 a 55 anos	0 (0,0%)	99 (100,0%)	99 (100,0%)
	56 a 65 anos	1 (10,0%)	9 (90,0%)	10 (100,0%)
	Outros	0 (0,0%)	3 (100,0%)	3 (100,0%)
	TOTAL	24 (2,3%)	1021 (97,7%)	1045 (100,0%)
Número de Doações	1ª doação	4 (1,3%)	297 (98,7)	301 (100,0%)
	2 a 6	14 (2,4%)	563 (97,6%)	577 (100,0%)
	7 a 10	4 (3,8%)	102 (96,2%)	106 (100,0%)
	11 ou mais	2 (3,3%)	59 (96,7%)	61 (100,0%)
	TOTAL	24 (2,3%)	1021 (97,7%)	1045 (100,0%)

Aplicando o teste qui-quadrado para cada variável descrita na tabela 11, os resultados demonstraram $p > 0,05$ para todas as variáveis estudadas, ou seja, que também o marcador anti-CMV IgM independe do sexo ($\chi^2 = 0,08$), grau de escolaridade ($\chi^2 = 11,02$), faixa etária ($\chi^2 = 7,92$) e número de doações ($\chi^2 = 2,33$).

Neste estudo determinou-se a soroprevalência de anticorpos IgG para anti-CMV em 96,4% dos doadores na triagem sorológica, significando que já tiveram exposição prévia a este vírus. Em relação ao anticorpo IgM a soroprevalência encontrada foi de 2,3%. Dos 24 doadores soropositivos para IgM, 23 foram positivos para IgG caracterizando a fase sub aguda, enquanto que um doador foi positivo para IgM e negativo para IgG, indicando infecção atual.

O resultado obtido - 96,4% de soroprevalência – é o mais alto encontrado em relação a outros estudos realizados, como o de CARMES (1993) em Curitiba, (PR), que em 565 doadores de sangue, obteve soropositividade de 92,3% para IgG; REIS (1996), no Rio de Janeiro (RJ), encontrou soropositividade para IgG em 91,6% dos 500 doadores pesquisados; BIASOLI (1998), em São Paulo, pesquisou a soropositividade para CMV em plaquetas de doadores de medula óssea através de anticorpos IgG e IgM e encontrou o valor de 67,9% dos 203 doadores IgG positivos para CMV; FRANCO (1999), em Recife (PE), estudando 1265 doadores de sangue constatou 71,9% de positividade para IgG anti-CMV.

Embora acima dos valores relatados na literatura dos estudos sorológicos realizados no Brasil, a porcentagem encontrada é semelhante à descrita na literatura mundial que situa a prevalência para CMV em torno de 95-100%, em países em desenvolvimento (PANNUTI *apud* SCHRÖEDER, 2003). Nos Estados Unidos, o CMV está presente em todas as regiões e classes socioeconômicas com prevalência estimada entre 50 a 85%, geralmente em adultos acima de 40 anos de idade (National Center for Infectious Diseases, 2002).

Em média 3,6% da população de doadores deste estudo, estavam susceptível à primoinfecção por apresentarem anticorpos do tipo IgG negativo para o CMV. A Região Serrana está entre as regiões mais pobres de Santa Catarina,

onde as condições de saneamento básico, condições de moradia, desemprego, podem justificar a elevada prevalência do CMV. O censo de 2002 demonstrou melhoria nos indicadores, estando em média 93,4% da população alfabetizada, e o restante dos municípios da AMURES, com média acima de 85% de alfabetizados, demonstrando que as desigualdades regionais existentes na infra-estrutura de saneamento fazem da universalização e da melhoria dos serviços de abastecimento de água, esgoto sanitário, limpeza urbana, coleta de lixo e drenagem urbana, um objetivo a ser alcançado pelo Município e conquistado pela sociedade (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2004).

A presença de anticorpos IgM, marcador de infecção aguda para CMV, foi encontrada em 2,3% dos doadores do estudo. BIASOLI (1998), no Rio de Janeiro, (RJ) encontrou em 2,95% dos doadores de plaquetas; FRANCO (1999), em Recife (PE), constatou 1,5% de anticorpos IgM nos 1265 doadores estudados.

A maioria dos estudos de prevalência pesquisaram apenas o anticorpo IgG, como o de CARMES, (1993) e o de REIS (1996) entre outros. Avaliando-se a população de doadores positivos IgG para anti-CMV com a de negativos, verificou-se que ambas são semelhantes em todas as variáveis estudadas. Analisando as variáveis utilizadas neste estudo, nos doadores positivos para IgG encontrou-se a predominância do sexo masculino, na faixa etária entre 18 a 25 anos, a maioria com o ensino fundamental e tendo doado de 2 a 6 vezes. Em relação à faixa etária, os resultados obtidos neste estudo estão em discordância com os resultados encontrados em estudos anteriores, os quais relataram que os maiores índices de prevalências, geralmente encontrados em doadores com idades mais elevadas, geralmente superior a 30 anos (CARMES, 1993).

Quanto aos anticorpos IgM para CMV, também não houve diferenças significativas nas variações entre a população positiva e a negativa. No entanto, ao comparar os doadores positivos para IgG com os positivos para IgM, houve diferenças em relação à variável escolaridade. O grau de escolaridade prevalente dos IgM positivos, foi de ensino médio, com 16 doadores dos 24 positivos, contrariando os estudos já realizados que destacam como tendo baixo grau de escolaridade os doadores positivos (PARMIGIANI, 1999). Quanto à faixa etária

predominante dos IgM positivos foi de 26 a 35 anos, entrando em concordância com o estudo de CARMES (1993), pelo qual a idade prevalente foi geralmente superior a 30 anos.

Em decorrência do pequeno número de doadores positivos para IgM anti-CMV (24), não se pode afirmar características específicas em relação ao perfil destes doadores soropositivos para este anticorpo, apenas expor os resultados obtidos e o cruzamento com as variáveis estudadas propondo hipóteses.

O anticorpo IgM vírus específico geralmente se eleva durante as primeiras duas a três semanas de infecção e persiste durante várias semanas a meses, sendo eventualmente substituído por anticorpo IgG (ABBAS, 2002). Várias limitações de interpretação devem ser consideradas em relação ao IgM. As respostas do anticorpo IgM específico não são restritas às infecções primárias, pois a reativação ou reinfecção podem resultar em ascensão dos títulos de IgM (PANNUTI et al, 1987). Outras desvantagens incluem títulos de IgM falsamente baixos ou negativos causados por competição de alto título de anticorpo IgG por locais de ligação com o antígeno e reações falso-positivas resultantes do fator reumatóide entre outros (STAGNO *apud* PARMIGIANI, 1999).

A diferença entre os índices de prevalência encontrados na literatura e os observados neste estudo podem ser decorrentes de diferenças metodológicas na medida das prevalências e/ou as diferenças na distribuição das variáveis demográficas estudadas (TEGTMEIER *apud* CARMES, 1993). Estas características, no entanto, não são específicas para pacientes com suspeita de infecção por CMV e, sim, características gerais de um grupo de doadores de sangue.

Este estudo teve por objetivo conhecer as prevalências dos anticorpos para anti-CMV IgG e IgM, na triagem sorológica dos doadores de sangue, uma vez que a legislação recomenda e determina este teste em casos específicos (BRASIL, 2004). Faz-se necessário, porém, analisar a coerência ou não de utilizar esta triagem como rotina, e avaliar os outros métodos que estão sendo utilizados para impedir a transmissão do CMV, vírus este que pode ser letal para imunocomprometidos, bebês de baixo peso e em transplantados de órgãos (BOWDEN, 1995).

Os testes sorológicos são úteis para determinar a prevalência da infecção pelo CMV e o antecedente de infecção pregressa através de IgG positivo. Em relação à infecção ativa e recorrente, a presença de IgM específica relaciona-se pouco com a replicação viral, pois segundo o estudo de PARMIGIANI (1999), dos 49 casos de PCR positivos para CMV, apenas em dois testes a IgM foi positiva.

Porém, um grupo de pesquisadores da Universidade de Emory, em Atlanta (USA), estudou 1000 doadores, sendo 416 soropositivos e 514 soronegativos para CMV, testados com duas técnicas utilizando anticorpos (ABBOTT CMV EIA e Fujirebio/Olympus CMV particle agglutination) tendo 70 amostras com resultados diferentes. Das 1000 amostras, apenas 2 (ambas positivas) apresentaram o teste CMV DNA detectável (positiva \pm 3 a 4 cópias), concluindo que o uso de testes CMV DNA não aumentou a detecção do agente infeccioso nos hemocomponentes, além dos detectados pelos métodos de triagem sorológica atuais (ROBACK, 2003).

Ao se avaliar o uso de hemocomponentes soronegativos, com a determinação da soroprevalência do CMV nos doadores da Região Serrana, com uma soronegatividade de 3,4% é possível estimar que a demanda e a disponibilidade deverão tender a números em torno de 4 doadores com CMV soronegativos para cada grupo de 100 candidatos à doação de sangue. Quanto maior o número de doadores CMV negativos estimado como necessário, maior o custo da triagem, portanto pode-se concluir que o custo da triagem é diretamente proporcional à demanda de produtos CMV soronegativos.

A formação de grupos de doadores negativos para CMV pode ser pensada, desde que outras populações, conhecedoras de suas respectivas prevalências de CMV para IgG e IgM, com índices mais baixos, possam planejar e implantar campanhas que, em um primeiro momento identifiquem os doadores CMV negativos envolvidos em um programa de doações regulares como o de BHUMBRA (BHUMBRA *apud* CARMES, 1993), que acompanharam, durante dois anos, uma população de 1155 doadores de sangue tipo "O" CMV negativos tendo uma taxa de soroconversão de 0,7% ao ano e 306 doadores permaneceram no "grupo" até o final do estudo (BHUMBRA *apud* CARMES, 1993). As avaliações dependem das

características específicas de cada banco de sangue, particularmente, demanda de hemocomponentes CMV negativos e capacidade de atendimento e produção.

Não se pode estar alheio à importância deste vírus no contexto da medicina transfusional. Desta forma, fez-se necessário, especialmente em relação aos pacientes imunodeprimidos que necessitam de maior segurança transfusional, uma avaliação da importância do uso de filtros leucodepletos.

O CMV se localiza primariamente nos leucócitos. O número e os tipos de leucócitos contaminados permanecem como as principais preocupações na qualidade do hemocomponente leucodepletado (GOLDMAN, 1995). A utilização de filtros leucodepletos com os quais se consegue reduzir o teor de leucócitos em aproximadamente 99,9% ($>3 \log^{10}$) dos leucócitos inicialmente presentes no sangue doado, resulta na obtenção de hemocomponentes com menos de 3×10^6 leucócitos alogênicos residuais (BORDIN, 1997).

A legislação norte americana (American Association of Blood Banks - AABB) orienta que a transfusão de hemocomponentes com contagem de leucócitos inferior a 5×10^6 diminui o risco de aloimunização HLA e a transmissão do CMV (GRILLO, et al., 2002). O Hemocentro Regional de Lages, juntamente com a Hemorrede Estadual acrescentou aos parâmetros de controle de qualidade, a determinação das células residuais em 1% dos hemocomponentes produzidos, permitindo o valor $<6 \times 10^6/\text{mL}$ em hemácias e em plasma $<10^5/\text{mL}$, diminuindo o risco da transmissão do CMV.

Um estudo de BOWDEN et al., (1995), comparando a eficiência da triagem sorológica com doadores negativos e a redução de leucócitos utilizando filtros, constatou que houve redução em 1,3 e 2,4%, respectivamente, no desenvolvimento de CMV, sendo que 5 dos 6 pacientes que contraíram o CMV, enquanto recebiam componentes filtrados progrediram a uma pneumonia letal. DUMONT et al., (2001), conseguiram obter doações de voluntários saudáveis com altas cargas de CMV e examinaram com teste para DNA CMV antes e após a filtração dos leucócitos. Dos 32 casos avaliados, 3 unidades de plaquetas filtradas e 4 unidades de concentrado

de hemácias apresentaram DNA CMV detectável, concluindo que a possibilidade da presença do CMV residual, após a redução de leucócitos, não pode ser excluída.

Em estudo da frequência e duração da viremia do CMV no plasma, durante a soroconversão de doadores e receptores de sangue, DREW et al., (2003), demonstraram através do método PCR, teste DNA CMV, que o CMV foi detectado em 9 dos 90 doadores, em soroconversão, e 3 dos 11 receptores, que não foram detectados na soroprevalência dos doadores e nem na leucodepleção, devido à baixa viremia no plasma durante a soroconversão.

Os estudos sugerem que há limites para as capacidades de triagem sorológica e filtros leucodepletos. As técnicas utilizadas para diminuir a transmissão do CMV em doadores de sangue ainda não são totalmente seguras, uma vez que não contemplam: a) o período de janela imunológica do CMV; b) os altos níveis de vírus associados aos leucócitos; c) o vírus livre no plasma; d) e a baixa viremia no plasma, como citado anteriormente (DREW et al., 2003).

A técnica ideal para o diagnóstico e a monitorização de infecção por CMV requer alta sensibilidade para a detecção precoce em indivíduos com elevado risco para esta doença, além de ser quantitativo, de modo que se possa avaliar a carga viral antes e durante o tratamento, no caso de transplante de órgãos e monitorização da utilização de fármacos com atividade antiviral. Segundo SCHRÖEDER (2003), é fundamental que a técnica selecionada possua alto grau de reprodutibilidade, permitindo que os estudos realizados nos mais diversos centros sejam comparados.

Cumprindo, ainda, salientar que para os bancos de sangue, não existe uma técnica 100% sensível e específica, porém existem meios de amenizar esta transmissão, triando os casos que necessitem maiores cuidados e avaliando as vantagens do uso de filtros leucodepletos que impedem ou reduzem a quase zero, a transmissão do CMV e outras infecções. O uso do filtro deve ser equacionado com a necessidade de um número muito maior de doadores na triagem sorológica para CMV, o que poderia ultrapassar a capacidade de captação do Hemocentro, resultando em custos de tal monta que dificilmente justificariam a economia gerada pela não realização da triagem sorológica para o CMV.

Considerando que o preço médio do filtro leucocitário está em torno de US\$ 25 (HEMOSC, 2004), o uso rotineiro de filtros leucodepletos poderá acarretar um acréscimo aos custos da Hemoterapia Pública Nacional. Dessa maneira, a indicação de hemocomponentes desleucocitados aparenta ser bastante apropriada para determinados pacientes. Os serviços devem determinar a melhor definição de quais grupos de pacientes serão realmente beneficiados com a utilização dos hemocomponentes desleucocitados na prática hemoterápica, diminuindo os riscos de transmissão do CMV, visando a segurança transfusional.

TÓPICO IV

5.4 CORRELAÇÃO ENTRE OS MARCADORES SOROLÓGICOS PARA CMV, HEPATITE B E C E PARA HIV-I/II

O teste utilizado para fazer as correlações entre os marcadores sorológicos estudados foi o teste de Correlação de Spearman. Testando todos os marcadores estudados, observou-se que não houve correlações entre os marcadores IgG e IgM para anti-CMV, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV e anti HIV-I/II apresentando valores para a correlação iguais a zero (ausência de correlação, para um nível de significância menor que 0,05. Os resultados de cada marcador independe dos demais marcadores (resultados não demonstrados no estudo).

A correlação entre os marcadores de HIV-I/II método 1 e HIV-I/II método 2 está representada na tabela 12.

Tabela 12. Valor do coeficiente de correlação de Spearman, entre os marcadores para HIV -I/II nos doadores de sangue do HRL

Coeficiente	Anti-HIV-I/II	Anti-HIV-I/II
Correlação Spearman	Método 1	Método 2
Anti-HIV-I/II 1	1.000	0.447 (*)
Anti-HIV-I/II 2	0.447 (*)	1.000

(*) $H_0: \rho=0$; diferença significativa a 5% (p-value < 0,0001)
N= 2968

Existe correlação entre o marcador para HIV-I/II 1 e o marcador para HIV-I/II 2 ($\rho=0,447$). O coeficiente de correlação encontrado é diferente de zero. Os resultados encontrados para HIV-I/II 1 dependem do resultado encontrado para HIV-I/II 2.

Estudos na área da saúde pública demonstram a correlação existente entre os marcadores soropositivos para HIV com HCV e/ou HBsAg, onde em alguns casos ocorre superinfecção (ZARSKI, 1998). As co-infecções entre hepatites virais em pacientes infectados com HIV, são descritas em vários estudos, como o de TREINTINGER, et al., em Florianópolis (SC) onde foi determinado a prevalência de hepatites em doadores de sangue e pacientes HIV positivos, avaliando a correlação desses marcadores. Com o número de amostras para doadores de sangue semelhantes ao desse estudo (n= 2678), e para pacientes infectados com o HIV, analisaram 91 amostras, demonstrando a co-infecção para HBV e HCV em 0,1% dos doadores de sangue, e 40% nos pacientes positivos para HIV, observando exposição dos pacientes HIV positivos, para outros vírus.

A exposição aos vírus HIV, HCV e HBsAg é menos freqüente em doadores de sangue, observando-se que as taxas de soroprevalências dos marcadores são baixas nos bancos de sangue. No presente estudo, não foram observadas correlações entre os marcadores HIV, HCV e HBsAg, e também não foram observadas correlações desses marcadores com os marcadores para CMV, até então não estudados em outros trabalhos.

TÓPICO V

5.5 DETERMINAÇÃO DO RISCO RESIDUAL PARA OS MARCADORES DE HEPATITE B, C E DE HIV-I/II

Para calcular o risco residual dos marcadores de Hepatite B, C e de HIV, foram avaliados os doadores de repetição (4857) dos 24969 indivíduos que doaram sangue no período de 2000 a 2003, verificando a soroconversão em quatro casos para HBsAg, quatro para HCV e um caso para HIV.

O caso foi considerado confirmado quando um dos marcadores HBsAg, anti-HCV ou anti-HIV apresentaram resultado positivo em duas amostras independentes de sangue. Se um doador de sangue positivo para um dos marcadores em estudo não retornou para a coleta da 2ª amostra, foi considerado um caso suspeito.

Como a incidência de HBV baseada exclusivamente no marcador HBsAg é propensa a um declínio, as estimativas foram corrigidas para a probabilidade de antigenemia transitória pela divisão de sua duração média de 63 dias com a mediana de interdoação entre os doadores em soroconversão para HBsAg, sendo considerada a estimativa de probabilidade de detecção de doador de soroconversão para HBsAg (s). A seguir calculou-se a probabilidade de detecção de um novo caso de infecção de HBV pela multiplicação da prevalência de doadores com antigenemia transitória (70%), com resposta primária de anticorpo (20%) e portadores crônicos (5%) com as probabilidades de detecção respectiva. A probabilidade de detecção de uma nova infecção por HBsAg, simbolizado por P, foi calculada como $P = S \cdot 0.70 + 0.05$, sendo o valor, o fator de ajuste obtido, multiplicado pela incidência de HBsAg.

A tabela 13 apresenta os dados utilizados e o cálculo do fator de ajuste, considerando a antigenemia transitória do marcador HBsAg, mediante aplicação de fórmula descrita anteriormente, o cálculo da incidência corrigida e do risco residual. Demonstra leve diminuição nos índices de risco de transmissão do vírus da Hepatite B em doadores de sangue na ordem de 1: 1075 no ano de 2000 para 1: 1351 no ano de 2003.

Tabela 13. Testes de incidência, estimativa de soroconversão, fator de ajuste e risco residual de HBsAg em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages no período de 2000 a 2003.

Testes	Período							
	2000		2001		2002		2003	
	n	Dias	n	Dias	n	Dias	n	Dias
Testados p/ HbsAg	1121	282617	1124	259182	1108	258730	1128	282270
HBsAg + confirmados	1	100	1	576	1	308	1	94
HBsAg - confirmados	3	1341	2	393	2	1688	0	
HBsAg + suspeitos	1	210	0		0		0	
Estimativa nº soroconversões	1.25	770.33	1	708.66	1	703.80	1	773.21
Incidência por 1000	1.62		1.41		1.42		1.29	
Mediana (dias)	189		201		195		185	
Fator de ajuste	3.57		3.72		3.62		3.53	
Incidência Corrigida	5.78		5.24		5.14		4.56	
Risco residual	0.93		0.85		0.83		0.74	

A partir dos dados da tabela 13, o risco estimado entre 2000 e 2003 para HBsAg foi de 1:1136.

A tabela 14 demonstra os dados e o cálculo da incidência corrigida e risco residual para o marcador anti-HCV. Verificou-se um risco estimado de 1:2703 em 2000, sendo que no ano de 2002 o risco oscilou para 1:2000. Calculando a

estimativa do risco no período entre 2000 e 2003, obteve-se um valor de 1:4244, nestes quatro anos. Nos anos de 2001 e 2003 não foi possível calcular o risco, por falta de soroconversões confirmadas.

Tabela 14. Testes de incidência, estimativa de soroconversão e risco residual de anti-HCV em doadores de sangue de repetição de 2000 a 2003.

Testes	Período							
	2000		2001		2002		2003	
	n	Dias	n	Dias	n	Dias	n	Dias
Testados p/ ANTI-HCV	1121	282617	1124	259182	1108	258730	1128	282270
HCV + confirmados	2	494	0		2	1.333	0	
HCV - confirmados	1	902	1	731	2	488	1	96
HCV + suspeitos	0	0	0		1	542	1	771
Estimativa nº de soroconversões	2	771.14		708.08	2.5	706.70		772.37
Incidência por 1000	2.59					3.54		
Risco Residual	0.37					0.50		

A tabela 15 apresenta o risco residual para o marcador anti-HIV-I/II do ano de 2000, estimado em 1:12853. Nos anos seguintes do estudo (2001 a 2003) não foi possível calcular o risco por não apresentar amostras em soroconversão para esse marcador.

Calculando a estimativa do risco no período compreendido entre 2000 e 2003, obteve-se o valor 1:50000.

Tabela 15. Testes de incidência, estimativa de soroconversão e risco residual de anti-HIV em doadores de sangue de repetição de 2000 a 2003.

Testes	Período							
	2000		2001		2002		2003	
	n	Dias	n	Dias	n	Dias	n	Dias
Testados p/ ANTI-HIV	1121	282617	1124	259182	1108	258730	1128	282270
HIV + confirmados	1	180	0		0		0	
HIV - confirmados	0		0		1	195	0	
HIV + suspeitos	0		0		1	554	0	
Estimativa nº soroconversões	1	774.05	0		0		0	
Incidência por 1000	1.29		0		0		0	
Risco residual	0.08		0		0		0	

A tabela 16 apresenta o risco residual estimado dos marcadores em estudo e suas respectivas incidências e períodos de janela imunológica no período compreendido entre 2000 e 2003.

Tabela 16. Risco residual estimado para os marcadores de Hepatite B, C e de HIV nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages, no período de 2000 a 2003

Marcadores	Incidência	Período de janela (dias)	Risco residual p/ 1000	Risco residual Por doação
HBsAg	5.44	59	0.88	1:1136
Anti-HCV	1.65	52	0.23	1:4244
Anti-HIV-I/II	0.020	22	0.020	1:50000

A prevenção da transmissão de infecções virais, através de componentes do sangue, geralmente ocorre excluindo-se os doadores infectados. Antes de qualquer

outro procedimento ou teste, esta continua a ser a etapa essencial à segurança dos hemocomponentes produzidos em bancos de sangue (MULLER-BREITKREUTZ; EVERS; PERRY, 1998 e CHIAVETTA, 2003). A captação e seleção de doadores de sangue destina-se a evitar que estes indivíduos com fatores de risco para as infecções transmitidas por transfusões, doem sangue. As doações são submetidas a testes de triagem sistemáticos que possibilitam a sua exclusão bem como a dos doadores infectados (MULLER-BREITKREUTZ.; EVERS; PERRY, 1998). Apesar destas medidas, o risco de transmissão de infecções virais através dos componentes do sangue, permanece. Este risco, atualmente baixo, está sobretudo associado ao "período de janela imunológica", logo a seguir à infecção do doador e antes que os marcadores possam ser detectados (PILLONEL, 1998).

Neste estudo, o risco residual para o marcador HBsAg nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages variou de 1:1075 em 2000 a 1: 1351 em 2003; para o anti-HCV, de 1:2703 em 2000, para 1: 2000 em 2002; e para o anti-HIV-I/II em 1: 50000 em 2000, não apresentando casos de soroconversão nos últimos três anos, demonstrando diminuição do risco no período estudado. Os valores obtidos, estão muito acima dos índices dos países desenvolvidos, como na França, em relação ao HBV e HCV, no período de 2000 a 2002, o risco residual com NAT foi estimado em 1/1.000.000 para o HCV e 1: 400.000 para o HBV. Em relação ao HIV, o risco da França foi estimado em 1:400.000 (PILLONEL, 2004). A vacinação parece ser responsável por parte do decréscimo do risco para HBV, e se todos os doadores forem vacinados, o risco torna-se extremamente baixo (PILLONEL, 1998).

Nos Estados Unidos, SCHREIBER (1996), alerta para o risco do anti-HCV não detectar infecções crônicas, e sugere a introdução de novas técnicas na triagem para diminuir substancialmente o risco residual. No ano de 1996, antes da introdução de testes para detecção da antigenemia p24 para HIV, nas doações de sangue, esse risco foi estimado entre 1 em 450.000 e 1 em 660.000 doações por ano (LACKRITZ *apud* FERNANDES, 2000).

No Canadá, CHIAVETTA et al., (2003), estudaram o risco para o HIV e para Hepatite B e C no período de 1990-2000, verificando um risco extremamente baixo

atribuído aos doadores de repetição, com uma estimativa por unidade de 1 em 10.000.000 para HIV; 1 em 3.000.000 para HCV e 1/72.000 para HBV. O risco residual para HIV e HCV diminuiu neste período, enquanto o do HBV oscilou durante toda a década.

No Brasil, o risco residual de transmissão do HIV por transfusão mostrou-se sempre mais alto do que o dos países acima mencionados. Em 1993, esse risco foi estimado entre 1 em 2.533 e 1 em 15.000 transfusões realizadas em São Paulo (SP) (HAMERSCHLAK; PASTERNAK & NETO, 1993). Em estudo realizado com mais de 5.000 doadores de repetição que haviam doado sangue entre os anos de 1994 e 1997 no Hemocentro de Marília (Estado de São Paulo), apresentou resultado pouco diferente; o risco residual de transmissão do HIV foi de 1 em 10.330 (CANUTTI, 1998). Utilizando a mesma metodologia, outro estudo com doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, entre 1996 e 1998, mostrou um risco residual de 1 em 77.000 (COVAS, 1998). No mesmo período, a Fundação Pró-Sangue – Hemocentro de São Paulo, estimou o risco residual de infecção por HIV em doadores de repetição em 1/64.000 doações (SABINO, et al., 1999).

Em Santa Catarina, um estudo de 139.188 doadores de sangue, no período 1991-99, estimou o risco residual para Hepatite B e C pelo método de incidência/janela, baseado em 11286 doadores de repetição. O risco residual de HBsAg em transfusões de sangue decresceu quase que 3 vezes na década de 90 porém ainda permaneceu muito alto em 1:2077. Embora o risco residual para hepatite C tenha sido reduzido mais de 30 vezes nos últimos anos da década de 90, comparado com o período inicial, o risco ainda é muito alto comparado ao dos países desenvolvidos (KUPEK, 2001.b).

Para o HIV, um estudo também realizado por KUPEK (2001), relata o risco estimado na década de 90. Nesse estudo pode se observar que o risco de HIV em doadores de sangue decresceu em doadores de sangue de 1:5000 em 1991-1994 para 1:48777 em 1997-1999, valor semelhante ao encontrado neste estudo.

No ano de 1997, um decréscimo considerável ocorreu, na incidência para Hepatite B, HIV e particularmente HCV em doadores de repetição, principalmente

para o HCV, com a introdução do método ELISA, de 3ª geração, que reduziu o período de janela imunológica de 82 para 52 dias. Durante este ano muitos doadores voluntários, mulheres, jovens, foram recrutados para doação de sangue. (KUPEK, 2001. b).

Contudo, no final da década de 90 e início de 2000 o risco aumentou, no Hemocentro de Florianópolis (SC), segundo o estudo de KUPEK (2004). Alguns profissionais hipotetizaram que um grupo de doadores de repetição poderiam usar a triagem sorológica para verificar seu teste HIV, por ser mais rápido o resultado e sem custo.

Em 2004, MASSINGAN, em sua tese de doutorado na Austrália (*in print*), avaliou os dados da triagem clínica e sorológica, no período compreendido de 1998 a 2002, na Hemorrede de Santa Catarina. Utilizando o método incidência/ janela, com alguns ajustes, verificou o risco para HBsAg de 1:37453 em SC; para HCV, o risco de 1:44444 em SC; para HIV, de 1:51282 em Santa Catarina, demonstrando que o risco também diminuiu nos últimos anos. Porém, comparando com os estudos de outros países, entre os quais França (PILLONEL et al., 2002) e Canadá (CHIAVATTA, et al., 2003), os índices de risco ainda permanecem muito altos.

Este modelo - incidência/janela - sofre restrições para o HBV, sendo ideal para o HIV e HCV, pois a soroconversão não é detectada apenas pelo marcador HBsAg, mas também pelo anti-HBc, pois, como este apresenta uma baixa especificidade (SCHIMIDT *in* FOCCACIA, 2003), o seu cálculo não é muito preciso. Além disso, como o HBsAg é um marcador que verifica uma antigenemia transitória, fatores de correção foram incorporados, tais como os descritos por KORELITZ e cols (1997).

A maioria dos estudos citados utilizaram a metodologia incidência/janela imunológica, porém há limitações na abordagem metodológica adotada e na interpretação dos dados analisados. Primeiro, uma grande variação no intervalo médio das doações, embora esperado para um pequeno número de doadores em soroconversão, contribui para grandes intervalos de confiança para estimativas de incidência e risco residual (KUPEK, 2001.a). Uma subestimativa pode ocorrer

porque o cálculo não leva em consideração todas as doações, mas apenas as dos doadores de repetição. Os períodos de janela podem ser subestimados, pois são de casos documentados de infecções transmitidas por transfusão e são, provavelmente, diferentes para indivíduos infectados por contato sexual ou por material infectado, que são os principais fatores de risco para os doadores de sangue contaminados.

Para diminuir o risco, algumas medidas foram sugeridas tais como: além da vacinação contra a Hepatite B nos doadores e dos esforços para promoção de saúde com o objetivo de reduzir a transmissão de doenças hemotransmissíveis, devem ser tomadas medidas especiais, tais como conscientização através de campanhas educativas (KUPEK, 2001.a ; CHIAVETTA, 2003); monitorização da rotina de risco residual usando o modelo janela/incidência que não é caro e é de fácil cálculo (PILLONEL, 1998; KUPEK, 2001 e 2004); introdução temporária de métodos de triagem, com curto período de janela infecciosa, tais como PCR em áreas de alta prevalência (PILLONEL, 1998; KUPEK, 2001; MASSINGAN, 2004); Segundo HAMERSCHLAK (2003), deve-se investir na doação regular, doação consciente, podendo, assim, diminuir o risco residual de transmissão de HIV.

O risco não pode ser estimado em caso de não detecção de variantes virais, infecções imunosilenciosas e erros laboratoriais (CHIAVETTA et al., 2003),

Os marcadores surgem pela mesma ordem de importância em doadores de repetição e de primeira vez. No entanto, a comparação entre as taxas, segundo o tipo de doadores, mostra uma diferença considerável de um marcador para outro. Em 1996, a taxa de doações positivas para o HBsAg, em doadores de repetição foi 180 vezes mais baixa que em doadores de primeira vez, enquanto que as taxas de anti-HCV e anti-HIV foram 40 e 12 vezes mais baixas, respectivamente (PILLONEL, 1998).

Outro risco em potencial, que pode ser minimizado em bancos de sangue, são os benefícios oferecidos aos doadores para incrementar o setor de captação e motivá-los a doar. Deve-se desestimular incentivos do tipo pagamento indireto, como presentes e brindes, pois são ótimos fatores motivacionais em escolas e

universidades, apreciados pelos jovens, porém não indicados para a formação da consciência altruísta do ato de doar sangue (MOTTA, 2003).

Alternativas para diminuição da taxa de infecção podem ser determinadas usando-se testes extremamente sensíveis com antígenos virais ou ácidos nucleicos. Contudo os testes podem detectar somente um subgrupo de infecção onde a imperfeita sensibilidade do ensaio não detecta aquele vírus. Outras técnicas devem ser utilizadas para monitorar diretamente o risco residual quantificando-o e avaliando a evolução proposta da redução do risco (SCHREIBER, et al., 1996).

Avaliando os bancos de sangue que introduziram técnicas de biologia molecular (NAT) na triagem sorológica como medida para diminuir o risco, e os serviços de hemoterapia que estudaram por meses e anos esta técnica na triagem, podemos verificar algumas confirmações da importância do NAT e outras contraposições conforme alguns estudos descritos a seguir.

Em Londres, SOLDAN (2002), encontrou seis casos de Hepatite B pós transfusional (TT-HBV) reportados entre 1998 e 2001. Todos foram resultados de infecções de doadores na fase aguda do HBV. Contrastando com o primeiro trabalho feito entre 91 e 97 quando somente 3 de 14 casos similares eram causados por infecção aguda em doadores, com maior incidência em infecção crônica em doadores.

No Canadá, o NAT para HIV foi introduzido em 2001 e os resultados indicam que este método pode reduzir o risco residual de HIV e HCV em 30% e 70% respectivamente. Baseados no prognóstico para HBV NAT, com a janela de 49 dias o risco pode ser reduzido de 13.88 por milhão de doadores para 11.53 por milhão (CHIAVETTA, 2000).

Em 2004 foi publicado um estudo, nos Estados Unidos, analisando 37.164.054 amostras negativas para a pesquisa de anticorpos, usando o teste HCV-RNA e HIV-RNA em minipools (de 16 a 24 amostras). Durante 3 anos de triagem de ácido nucleicos foram detectadas 12 amostras confirmadas com HIV-RNA ou 1 em 3,1 milhões, apresentando somente dois casos para HIV-1 p24. Para HCV, 1 em

230000 doações, com 67 HCV-RNA positivos, foi demonstrado que a soroconversão ocorreu em média no 35º dia após à doação e 3 casos foram considerados imunologicamente silenciosos para essa infecção (STRAMER, et al., 2004).

Em São Paulo, num centro de referência em Hemoterapia, realizou-se um estudo por 2 anos no uso do NAT para HCV. No período estudado não foram detectados casos em que os exames de triagem tenham tido resultados falso negativos (POLITE, et al., 2003).

Ainda em São Paulo, 1800 doações de sangue consecutivas foram testadas para PCR-HCV-RNA, com pools de 50 amostras (36 pools). O método PCR apresentou uma sensibilidade de 66% e especificidade de 99,9%; O ELISA apresentou uma especificidade de 99,4%, com 3 pools contendo pelo menos 1 ELISA positivo. O RIBA confirmou uma amostra apresentando resultado negativo para o PCR. Verificou-se neste estudo, que o sistema de pool é viável e específico, mas incabível para rotina de banco de sangue devido à necessidade da retestagem de pools positivos enquanto unidades de sangue permanecem bloqueadas. O método não alcançou a sensibilidade desejada levando à conclusão de que a testagem individual de doações é o objetivo final a ser alcançado (LEVI, et al., 1999).

Em 2003 foi publicado, em São Paulo, o primeiro caso de detecção de HIV, pelo método NAT no período da janela para o marcador para HIV em São Paulo. Este caso apresentou resultado positivo para o NAT e negativo para a pesquisa de p24 ag e ac. Em seu acompanhamento sorológico, 10 dias após, o p24 ag apresentou resultado positivo, mas não positivou para o anticorpo p24 (TANUKI, et al., 2003).

O Estado de SC lidera o ranking nacional em percentual de usuários de drogas injetáveis (IDU) e pacientes com AIDS, aumentando a incidência de HBV, HCV e HIV nesta população. Campanhas educacionais devem ser implantadas com explicações aos candidatos à doação, sobre a existência da janela imunológica. Porém na Região Serrana, os hábitos e costumes da população são diferentes do litoral, a população é mais conservadora. O clima frio propicia que as pessoas

tenham hábitos mais diurnos, não existindo tantas atrações e turistas como em cidades litorâneas. A vida noturna, com poucas opções, faz com que as pessoas reúnam-se com maior frequência em casa de amigos. Constata-se por vários anos consecutivos, através dos boletins sorológicos que o índice de positividade dos marcadores sorológicos das doenças hemotransmissíveis são os mais baixos do Estado (HEMOSC, 2003), e conseqüentemente o risco residual também está diminuindo, confirmado com os valores verificados neste estudo.

O uso de PCR para triagem em áreas de alto risco pode diminuir o período da janela em 11 dias, diminuindo 50% do risco residual se comparado com os testes atualmente utilizados (KUPEK, 2001). O Ministério da Saúde publicou a Portaria 79, em 2003, implantando o NAT. Em 2004 esta Portaria foi revogada e publicaram a Portaria nº 112, formando grupos de estudos para estudar a viabilização da implantação do NAT. Faz-se necessário um estudo criterioso, em que seja possível avaliar o custo-benefício da implantação de uma técnica, que sem dúvidas, diminuiria a janela imunológica e, conseqüentemente, o risco residual das doenças transmitidas pelo sangue. Porém é necessário um planejamento logístico dos locais, das condições em que serão estabelecidos os centros de testagem, dos equipamentos e kits que serão implantados, dos treinamentos adequados aos profissionais, do transporte das amostras e da comunicação entre os bancos de sangue e os centros de testagem, para que se possa ter um sangue com maior qualidade, liberado em tempo hábil de salvar vidas.

A segurança transfusional depende de vários fatores que vão desde o conteúdo educacional das campanhas de conscientização do doador de sangue, passando pelo conhecimento e respeito das regras estabelecidas na legislação vigente e dos programas de qualidade na área de transfusão, até a qualificação técnica dos integrantes do Hemocentro quanto à realização dos testes laboratoriais.

Inúmeras medidas são necessárias para se reduzir o risco de transfusão de HBV e HCV em áreas de alta prevalência. O primeiro passo deveria ser uma monitoração de rotina de risco residual usando o modelo janela/incidência que não é caro e é fácil de se calcular. O próximo passo deve ir desde uma introdução temporária de métodos de triagem, com um curto período de janela imunológica,

tais como, PCR em áreas de alta prevalência, ate medidas de longo prazo para se reduzir o risco. Uma justificativa de custo-benefício destes métodos deveria ser verificada antes de sua implementação.

A melhoria dos procedimentos de seleção de doadores pode ser obtida a médio longo prazo tais como: vacinação contra Hepatite B, projetos além do limite de grupos de alto risco, programas de redução de danos p/ usuários de drogas injetáveis, bem como a educação em saúde sobre doenças sanguíneo-infecciosas em geral, e o risco da transfusão em particular.

Em conclusão, os significativos decréscimos nas taxas de doações positivas para o HBV, HCV e HIV, tal como os riscos residuais de transmissão destes vírus, mostram o progresso, nos últimos anos, das medidas de prevenção para a captação e seleção de doadores antes da doação e a melhoria dos testes de triagem.

VI. CONCLUSÃO

1 - O formato de um novo perfil de doadores para a Região Serrana foi demonstrado revelando doadores mais jovens (18 a 25 anos), fidelizados (72,5% de doadores de repetição) e com grau de escolaridade mais elevado (40,6 nível fundamental e 38,5% nível médio).

2 - Os marcadores para Hepatite B, C e de HIV na triagem sorológica dos doadores apresentaram diminuição em suas respectivas soroprevalências. Para o HBsAg foi verificada 0,17% (IC_{95%} 0,02-0,36); para anti-HCV, 0,20% (IC_{95%} 0,04-0,36) e para o anti-HIV, 0,10% (IC_{95%} 0,00 - 0,21).

3 - A soroprevalência de anticorpos IgG anti-CMV detectada na triagem sorológica dos doadores foi 96,4% (IC_{95%} 95,23 - 97,50) significando exposição prévia ao citomegalovírus. Para os anticorpos tipo IgM para CMV a soroprevalência verificada foi de 2,3% (IC_{95%} 1,39 - 3,20). Estima-se em torno de 4 doadores negativos para o CMV, em cada grupo de 100 candidatos à doação de sangue.

4 - Não foi verificada correlação entre os marcadores estudados para CMV, Hepatite B, Hepatite C e HIV, verificando correlação apenas entre os marcadores para os métodos utilizados na triagem sorológica para HIV.

5 - O risco residual estimado para Hepatites B e C e para HIV nos doadores de sangue do Hemocentro no período estudado, apresentou diminuição em seus índices, confirmando a hipótese que a nova legislação referente à Hemoterapia

Nacional, com a introdução de testes mais sensíveis, está diminuindo a janela imunológica, o risco residual e conseqüentemente aumentando a segurança transfusional.

REFERÊNCIAS

AABB - American Association of Blood Banks. **Technical Manual**. 14th ed. Bethesda (MD), 2002.

ABBAS, A; LICHTMAN, A; JORDAN, P. **Celular and Molecular immunology**. I: 4 ed. 2002 p. 4-14.

ALMEIDA NETO, Cesar de; STRAUSS, Edna; SABINO, Esther Cerdeira et al. Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors from São Paulo. **Rev. Inst. Med. trop**. S. Paulo, ago. 2001, vol.43, no.4, p.203-208. ISSN 0036-4665. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>> Acesso em 01 de julho de 2004.

AMORIM, D.S. et al. Citomegaloviroses, Clínica, Diagnóstico e Tratamento. **JBM-Jornal Brasileiro de Medicina**, São Paulo, jan./fev/2003. Vol 84, nº1/2, p.29-32.

AMURES. ASSOCIAÇÃO DOS MUNICIPIOS DA REGIÃO SERRANA. Disponível em: <<http://www.amures.org.br>>. Acesso em 15 nov. 2003.

ANDRADE, D. R.; JÚNIOR, D. R. A. Imunopatogenia - Hepatite pelo vírus VHB/VHC. Conceitos gerais. In: VERONESI, R; FOCACCIA, R. (Org). **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. São Paulo: Ateneu, 2002. p. 338-347.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Boletim da Produção de Serviços Hemoterápicos - 2002**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em 08. out. 2003.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Formulação da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em 05. jan. 2003.

De acordo com a norma NBR 6023/02 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o: **CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI)**.

_____. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Dados de produção.** Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/sangue/hemoterapia/relatorios/index.htm>> Acesso em 10. jun. 2004.

ARRAIS, L. C. Et al. The biological meaning of anti-HBc positive result in blood donors: relation to HBV-DNA and to other serological markers. **Rev. Inst. Med. trop.** São Paulo, maio/jun. 2003, vol.45, no.3, p.118-118. ISSN 0036-4665. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>> Acesso em 01 de julho de 2004.

BELLATO, T.M.S. **Doação de sangue em Santa Catarina: práticas e desafios.** 2001. 150 f. Dissertação (Mestrado do Programa de Apoio ao Plano Sul de Pós-graduação em Educação - Acordo CAPES/FUNCITEC). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

_____. **Perfil do doador de sangue na cidade de Lages.** Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Suplemento outubro. 1998. p79.

BIASOLI, R. et al. Pesquisa de soropositividade para CMV através de anticorpos totais IgG e IgM em doadores em potencial de plaquetas para TMO alogênico In: Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia- HEMO 98.** São Paulo. Vol. XX - out.98. p.57 A151. 1998.

BINSBERGEN, J. V. et al. Strongly enhanced sensitivity of a direct anti-HIV ½ assay in seroconversion by incorporation of P24 Ag detection: a new generation Vironostika HIV uni-form II. **Journal of Virological Methods** nº76, 1998. p.59-71.

BLUMBERG BS, Gerstley BJS et al. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann Intern Med* 66:924-31, 1967.

BORDIN, J. O; FABRON Jr. A. Aplicação clínica de filtros leucocitários. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.43, n.3. jul./set, 1997.

BOWDEN, R.A. et al. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. **Blood** 86:3598-603. 1995.

BRANDÃO, A.B.M. et al. Diagnosing hepatitis C in clinical practice: a literature review. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am, Public Health** 9(3), 2001.

_____. **Fatores de risco para infecção pelo vírus da Hepatite C em doadores de sangue: um estudo de casos e controles.** 1999. 139 f. Dissertação (Mestrado em Hepatologia). Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre e Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, 1999.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS- Diagnóstico Sorológico HIV – Testes Confirmatórios. Brasília: CN DST / AIDS, **Série TELELAB**, 1997. 67 p.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue**. Brasília: ANVISA, 2003. 105 p.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 488 **Diário Oficial da União**: 17 junho de 1998. Brasília, Seção I, nº 114-E, 18 jun. 1998.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução nº 153 de junho de 2004 - Determina o Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. **Diário Oficial da União**: 24 de junho de 2004.

Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias.htm>>. Acesso em 08 jul. 2004.

_____. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 112 de 29 de janeiro de 2004. Determina a implantação em etapas, no âmbito da Hemorrede Nacional, da realização dos testes de amplificação e de detecção de ácidos nucleicos (NAT), para HIV e HCV, na amostras de sangue de doadores. **Diário Oficial da União**. 30 de janeiro de 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.Br/legis/portarias.htm>>. Acesso em: 02 abr. 2004.

CANÇADO, R.D. et al. Estudo do perfil epidemiológico dos doadores de sangue do Hemocentro da Santa Casa de SP no período de 1998 a 2002. **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, ago. 2003, 25, suplemento 2, 191-256 - N 657 - p201.

CANUTTI JUNIOR, V. Risco transfusional: metodologia e estudo. **Atualização em Hemoterapia**, ago: 5:90-9, 1998.

CARMES, E.R. **Estudo de Prevalência de anticorpos IgG anti citomegalovírus humano e aplicação da função discriminante de Fisher para classificação pré-triagem sorológica da população de doadores voluntários de sangue do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná**. (Dissertação) Curitiba, UFPR, 1993. p.155.

CARMO, Ricardo Andrade. **Hepatites virais**. Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais, p. 57, 1996. (Caderno Hemominas, VIII).

CDC. National Center for Infectious Diseases. **Viral Hepatitis**. 2002. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/diseases>> Acesso em: 24 jul 2003.

CDC. National Center for Infectious **Diseases Cytomegalovirus (CMV) Infection**. 2002. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/cmv.htm>. Acesso em 10 dez 2004.

CENTERS for Disease Control and Prevention. Interpretation and Use of the Western Blot Assay for Serodiagnosis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infections. **MMWR**. 1989;38: (S-7): 1-7.

_____. Guidelines for laboratory Testing and Result Reporting or antibody to Hepatitis C Virus. **MMWR**. 2003;52: (RR-3)1-16.

CHAMONE, D; NOVARETTI, M.C.Z; DORLHIAC-LLACER, P.E. **Manual de Transfusão Sanguínea**. São Paulo: Roca, 2001.

CHIAVETTA, J.O. Anne et al. Incidence and estimated rates os residual risk for HIV, hepatites C, hepatites B an human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990 – 2000. **Research CMAJ**. Oct. 14, 2003; 169 (8).

CHOO, Q.L.k.G; WEINER, A.J; OVERBY, L..R; et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-a, non-B viral hepatitis genome. **Science**, 1989: 244:359-62.

COTRAN, Ramzi S; KUMAR, Vinay; COLLINS, Tucker. **Robbins: patologia estrutural e funcional - Doenças infecciosas**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 769-784.

COVAS, D.T. Risco de transmissão do HIV-1 pelas transfusões de sangue. Escola Brasileira de Hematologia. **Série de Monografias**, v. 5, p. 100 - 106, 1998.

CRAWFORD, J.M. O fígado e o trato biliar - Hepatites. In: ROBBINS. **Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara, 7.ed. 2000.

CROWE, S.; MILLS, J. Infecções Virais do Sistema Imunológico in: STITES, D.P; TERR, A.I; PARSLOW, T.G.(Org) **Imunologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 689 p.

DANE, D.S; CAMERON, C.H. et al. Vírus-like particles in serum of patients with Austrália-antigen associated hepatitis. **Lancet** I:695-98, 1970.

DOWNING, D; CLARK, J. **Estatística Aplicada**. Tradução de Alfredo Alves de Farias. São Paulo: Saraiva, 1998. p.455.

DREW, W.L. et al. Frequency and duraction of plasma CMV in seroconvertind blood donors and recipients. **Transfusion** v. 43, I. 3, p. 309, mar. 2003.

DUMONT, L.J. et al. The effect of leukocyte-reduction method on the amount of human cytomegalovirus in blood products; a comparison of apheresis and filtration methods. **Blood** 97:3340-7, 2001.

FAGGIONI, L.P.C. **Histórico da Hemoterapia no Brasil**. Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, 1998. Disponível em Disponível em: <<http://www.pegasus.fmp.usp.br>. Acesso em 12 dez. 2004.

FERNANDES, M.L.C. et al. **Reinvestigação de casos de aids classificados na categoria de exposição transfusão no SINAN/AIDS**, Brasil 1999/2000. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/bol_dezembro_2002/artigo1.asp> Acesso em: 20 mai. 2004. Ministério da Saúde - Coordenação Nacional de DST e AIDS – Ministério da Saúde.

FERREIRA, E.C. et al. Estudo comparativo da capacidade de resolução por 1 e 2 métodos de ELISA para HIV em doadores voluntários de sangue realizado no Serviço de Sorologia da Colson/Unifesp (Sociedade Beneficiente de Coleta de Sangue, São Paulo). **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, vol.25 - suplemento 2-A, agosto de 2003.

FORNS, X; BUKH, J. Methods of determining the Hepatitis C Virus Genotype. **Viral Hepatitis Reviews**, 4: 1-19, 1998.

FRANCO, M. et al. Prevalência de citomegalovírus (CMV) em doadores de sangue. In: **XXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISES CLÍNICAS**, Goiânia, Temas livres. p.26/99,1999.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Síndrome da Imunodeficiência adquirida (AIDS)**. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/guia_epi/htm/doencas/sind_imu. Acesso em 10 nov. 2003.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE. **Diagnóstico Sorológico e Molecular de Doenças Transmissíveis pelo Sangue** – Controle de Qualidade Laboratorial. São Paulo. 1997. (Apostila).

GIANGRANDE, P.L.F. Historical Review - The History of Blood Transfusion. **British Journal of Haematology**.110: 758-767. 2000.

GOH, W.C. et al. Doenças da Imunidade. In: ROBBINS. **Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara, 7.ed. 2000.

GOLDMAN, M; DELAGE, G. The role of leukodepletion in the control of transfusion-transmitted disease. **Transfus Med Rev**. 9: 9-19. 1995.

GONCALES, Neiva S.L; COSTA, Fernando F; VASSALLO, José et al. Diagnosis of hepatitis C virus in Brazilian blood donors using a reverse transcriptase nested polymerase chain reaction: comparison with enzyme immunoassay and recombinant protein immunoblot assay. **Rev. Inst. Med. trop.** S. Paulo, Sept./Oct. 2000, vol.42, no.5, p.263-267. Disponível em: <www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em: 24 jul 2003.

GRANATO, Celso. A problemática da infecção pelo citomegalovírus em pacientes imunodeprimidos. **Rev.bras.hematol.hemote.**, 23 (3): 130-132. 2001.

_____. Diagnóstico Laboratorial Específico - Hepatites. In: VERONESI, R; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. São Paulo: Ateneu, 2002.

GRILO, K. T. de M. et al. Avaliação das células residuais em plasma. **Anais do XXV Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia- HEMO 2002**. Salvador. Bahia. Vol. XX - mai.02. p.106 P-303. 2002.

HAMERSCHLAK, Nelson. **Incentivo a doadores regulares pode evitar a contaminação de AIDS**. Banco de sangue do Hospital Albert Einstein. Disponível em: <[#AIDS](http://www.usp.br/agen/rede451.htm)> Acesso em: mai/03

HAMERSCHLAK, N; PASTERNAK, J; NETO, V.A. Risco atual de transmissão de AIDS por transfusão. **Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo** 1993; 48(4): 183-85.

HEMOMINAS. **Doador do futuro**. Disponível em: <<http://www.hemominas.gov.br/Doadordofuturo/links>> Acesso em 01 jul de 2004.

HEMOSC. CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DE SANTA CATARINA. **Relatório da Gestão 2001**. Prêmio de Qualidade do Governo Federal. p.67.

_____. CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DE SANTA CATARINA. **Relatório do HEMOPROD, 2003**. Disponível em: <<http://www.hemosc.org.br/HEMOPROD>> Acesso em: 16 nov 2003.

_____. CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO ESTADO DE SANTA CATARINA. Coordenadoria de Planejamento e Qualidade. **Relatório estatístico sorológico anual de 2003**. Florianópolis, 2004.

HOLBERG, P. **Interaction between human cytomegalovirus and host cells**. University of Oslo 2000.

INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRÁFICA E ESTATÍSTICA. **Senso de 2000** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2000/ufs>. Acesso em: 25 out 2004.

KOECHER, D. K. **(Re)Descobrimos caminhos através da educação para interação com o doador de sangue que passa pela experiência de soropositividade.** Lages, 2000. 75 f. Monografia (Curso de Especialização em Metodologia do Ensino para profissionalização em Enfermagem) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

KORELITZ, J.J; et al. A method for estimating hepatitis B virus incidence rates in volunteer blood donors. **Transfusion** 1997; **37**:634-640.

KUPEK, E.J. The reduction of HIV transfusion risk in southern Brazil in the 1990s. Science Ltd. **Transfusion Medicine**, Blackwell, p. 75-78, 2001.

_____. Tendências temporais em soroprevalência de HIV, sífilis e Hepatites B e C em doadores de sangue da Grande Florianópolis (1991-1996). **J. Bras. Patol.** 2001 jan-mar; **37**(1): 17 -23. (a)

_____. Residual transfusion risk for Hepatitis B and C in southern Brazil, 1991-99. **J Viral Hepat.** 2001 Jan;8(1):78-82. (b)

_____. Transfusion risk for hepatitis B and C and HIV in the Santa Catarina, Brazil, 1999-2001. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases.** 2004;8(3): 236-240.

KUTNER, José Mauro. **Avaliação da Triagem Clínica na Seleção de Candidatos à Doação de Sangue.** Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1998.

LEVI, J.E. et al. HCV-RNA PCR as a screening test on blood donors “ pools”. **Rev. Bras. Hemat.** 1999 21(2):61-66.

MACEDO, S.R.M. As representações sociais das mulheres sobre sangue e doação de sangue. Uma proposta de investigação - HEMORIO. **Anais do 25º Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia** - HEMO 2002 - Salvador - Bahia p.41. PO41.

MACHADO, P. E . A . Diretoria da FM - UNESP. Botucatu, 2001. **HEMOMINAS.** Disponível em: <http://www.hemominas.mg.gov.br>. Acesso em 13 de abr. 2003.

MASSIGNAM, CM. **Safety and use of blood products in Santa Catarina, Brazil: a system approach to analyse performance.** PhD Thesis. University of Queensland, Brisbane, Australia, 2004 (*in print*).

MAYRINK, J.M. Pró-Sangue em busca de doadores fiéis. **Jornal da Tarde**, São Paulo, 06 set. 2003. Disponível em <<http://www.aids.gov.br/imprensa>> Acesso em 12/08/2004.

MOTTA, M.L. Oficina **Fazendo a Diferença da Região Sul** - Incentivo à doação - HEMORRIO. Disponível em:
<http://www.sangue/eventos/oficina_pndvs/hemorrio.ppt> (2003).

MULLER-BREITKREUTZ, K.T; EVERS.T; PERRY, R. **Viral marker rates among unpaid blood donors in Europe decreased from 1990 to 1996** . Eurosurveillance. Vol.3.nº7. July 1998. Disponível em:
<<http://www.eurosurveillance.org/em/v03n07/v03n07.pdf>> Acesso em 10 jun. 2004.

MUON, M; GONÇALVES, M.H. Doadores de sangue de 1º vez: monitorização no Centro Regional de Coimbra. Resumo de Pôster apresentado no VIII Congresso Europeu Internacional Society of Blood Transfusion, Istambul - Turquia. 2003. Publicado na ABO - **Revista de Medicina Transfusional**, nº 16. dez. 03. p39.

NADLER, J. AIDS - Etiopatogenia. In: VERONESI, R; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. São Paulo: Ateneu, 2002.

NESS, P. M. Decreasing seroprevalence of human immunodeficiency vírus type 1 in a regional blood donor population. **Transfusion**, v. 30, p. 201-206, 1990.

OTANI, Marcia M; SALLES, Nanci A; BARRETO, Angela M.E. et al. Evaluation of the concomitant use of two different EIA tests for HIV screening in blood banks. **Rev Panam Salud Publica**, Feb./Mar. 2003, vol.13, no.2-3, p.172-175. ISSN 1020-4989.

PALTANIN, Lindamyr Fornazieri; REICHE, Edna Maria Vissoci. Seroprevalence of anti-hepatitis C virus antibodies among blood donors, Brazil. **Rev. Saúde Pública**, Aug. 2002, vol.36, no.4, p.393-399.

PANNUTI, C.S. et al. Detecção de anticorpos IgM nas infecções primárias e secundárias pelo CMV em pacientes submetidos a transplante renal. **Rev. Inst. Méd. Trop.**, 29:317-22. 1987.

PARMIGIANI, S. V. **Acurácia da sorologia em comparação à reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico de infecção materna pelo citomegalovírus**. 1999. 80p. (Dissertação de Mestrado - UNICAMP- Campinas - SP).

PATINO-SARCINELLI, F. et al. Prevalence and risk factors for Hepatitis C antibodies in volunteer blood donors in Brazil. **Transfusion**, v. 34, p. 138-141. 1994.

PEDROSO, M.L.A. **Avaliação, acompanhamento laboratorial e análise clínico-epidemiológico da presença de anticorpos e RNA do vírus da Hepatite C em doadores de sangue anti-HCV ELISA positivos**. 1993. 155p. (Dissertação de Mestrado - UFPR- PR).

PEREIRA, M.G. **Epidemiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.398-417.

PEREIRA, J.M. et al. Evaluation of a molecular assay for determining viral load on HIV-1 antibody negative patients. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Jan. 2002, vol.38, no.1, p.21-23. ISSN 1676-2444.

PETZ, Lawrence; et al. Clinical practice of transfusion medicine. **Churchill Livingstone**, EUA, 3. ed., 1996.

PILLONEL, C; SAURA, A.M. Viral marker rates among unpaid blood donors in **Europe decreased from 1990 to 1996**. European Communicable Disease Bulletin. Eurosurveillance. V. 03 N. 7 July 1998. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/em/v03n07/v03n07.pdf>. Acesso em 08 de jun 2004.

_____. et al. Trend in residual risk of transfusion-transmitted viral infections in **France between 1992 and 2000**. Transfusion, Vol 42. august, 2002.

_____. Trend in residual risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV,HCV,HBV) in France between 1992 and 2002. **Transfus Clin Biol**; 11(2):81-6, apr. 2004.

PINHO, M.L.G. et al. O uso de técnicas de amplificação de ácidos nucleicos no rastreio do HCV e do HIV nas amostras de sangue - Experiência do Hospital Geral Santo Antonio. **Revista ABO** nº 3 - set. 2000.

POLESKY, H. F. Vírus Transmitidos por transfusão. In: HARMENING, D. et al. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992.

POLITE, M.B. et al. Two years of individual donor screening for HCV nucleic acid testing (NAT) – **Rev. Bras. Hematolog**. 2003.

QUEIROZ, T. M. Análise do perfil dos doadores de sangue do banco de sangue Central e Posto Fixo do Hemocentro - Recife, 2001. Publicado no **Anais do 25º Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia** - HEMO 2002. p42-p41.

REIS, A.M.M; SILVA, E.F; CASTILHO, S.L. Prevalência de anticorpos contra o citomegalovírus em doadores de sangue no Hemorio. In: Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia** - HEMO 96. Porto Alegre. Vol. XVIII - out.96. p.464-P. 1996.

REVEG, A; SCHIFF, E. Hepatology: A century of progress - Viral hepatitis A, B and C. **Clinics in Liver Disease**, feb. 2000, vol.4, no. 1, p.1-20. Disponível em: <http://home.mdconsult.com/das/article/body/34731188-2/jorg=journal>. Acesso em 22.01.02.

ROBACK, J.D. et al. CMV DNA is rarely detected in healthy blood donors using validated pcr assays. **Transfusion**, vol. 43 pag 314. mar.2003.

ROSINI, Nilton, et al. Seroprevalence of HbsAg, anti-HBc and anti-HCV in Southern Brazil, 1999-2001. **Braz J Infect Dis**, Aug. 2003, vol.7, no.4, p.262-267.

SABINO, E.C; SALLES, N; SÁEZ-ALQUÉZAR, A. et al Estimated risk of transfusion-transmitted HIV infection in São Paulo, Brazil. **Transfusion** 1999; 39:1152-3.

SAÉZ-ALQUEZAR, A. Triagem Sorológica em Unidades Hemoterápicas **Boletim COSAH**, Coordenação de Sangue e Hemoderivados MS/SAS/DAPS - Ano I - N° 5 de Janeiro 1995. Disponível em: <<http://www.hemonline.com.br>>. Acesso em 10 out. 2003.

_____. et at. **Prevalência de anticorpos anti HCV em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue de São Paulo**. V XVI p. 209-213. 1998.

SALLES, N.A; SABINO, E.C; BARRETO, CLAUDIA, C. et al. The discarding of blood units and the prevalence of infectious diseases in donors at the Pro-Blood Foundation/Blood Center of São Paulo, São Paulo, Brazil. **Rev Panam Salud Publica**, Feb./Mar. 2003, vol.13, no.2-3, p.111-116.

SCHREIBER, G.B. et al. The risk of transfusion – transmitted viral infections. **The New England Journal of Medicine**. Vol 334, June 27,96, nº 26 (EUA).

SCHRÖEDER, Regina Barbosa. **Antigenemia para citomegalovírus no pós-transplante renal**: escolha de um ponto de corte para o diagnóstico de doença citomegálica [mestrado]. Porto Alegre: PUCRS; 2003

SDS - Stats Direct Statistical software versão 2.3.5.

SILVA, L.C. ; GRANATO, C. Características do vírus e dos marcadores. Importância clínica. In: SILVA, LC, [editor]. **Hepatites agudas e crônicas**. São Paulo: Sarvier; 1986. cap. 2, p. 9-20.

SOLDAN, K; BARBARA, J.A.J; DAW, B.C. Transfusion – transmitted hepatitis B virus infection in the UK: a small and moving target. **Vox sanguinis** (2002) 83.305-308. Blackwell Science 200 C.

STRAMER, S.L et al. Detection of HIV –1 and HCV Infections among antibody-Negative Blood Donors by Nucleic acid – Amplification Testing. N. **Engl. J. Med**. 2004; 351:760-8.

TANUKI, P.M. et al. NAT detection in a blood donor at HIV antig. and antibody window period. First case reported in Brasil. **Rev. Bras. Hematol.** Hemoter. Ago 2003. 25 suplemento 2: 191-256.

TREITINGER, A; SPADA, C. Hepatitis B and Hepatitis C – Prevalence among blood donors and HIV – 1 infected patients in Florianópolis – Brazil. **The Brazilian Journal of infectious diseases**. 4(4): p. 192-196, 2000.

TSUCHIYA, L. et al. Padronização da técnica antígenoemia para a detecção do citomegalovírus. **Revista brasileira de Análises Clínicas RBAC**. v. 33 – 4, 2001.

VALENTE, Vanderléia B. **Estudo da distribuição dos marcadores sorológicos das hepatites B e C entre doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP**. 2002. 90p. (Tese de Mestrado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP).

VASCONCELOS, et al. Hepatitis B and C prevalences among blood donors in the south region of Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 89: 503-507, 1994.

VERONESI, R; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. .São Paulo: Atheneu, 2002.

VERRASTRO, Therezinha; LORENZI, Therezinha Ferreira; WENDEL NETO, Silvano. **Hematologia e hemoterapia**: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Atheneu, 2002. 303 p.

VERTCHENKO, S.B. Sangue - **Revista Minas Faz Ciência** no. 8 - Fapemig Hemominas forma maior banco de dados do Brasil . Disponível em: <www.revista.fapemig.br/8/sangue.html> Acesso em 08 jun 2004.

ZARSKI, JP, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. **Journal of Hepatology** 28: 22-31, 1998.

WENDEL, S. Prevalência em Bancos de Sangue - Epidemiologia da Hepatite pós-Transfusional . In: FOCACCIA, Roberto. (Org). **Tratado de hepatites virais**. São Paulo: Atheneu, 2003.

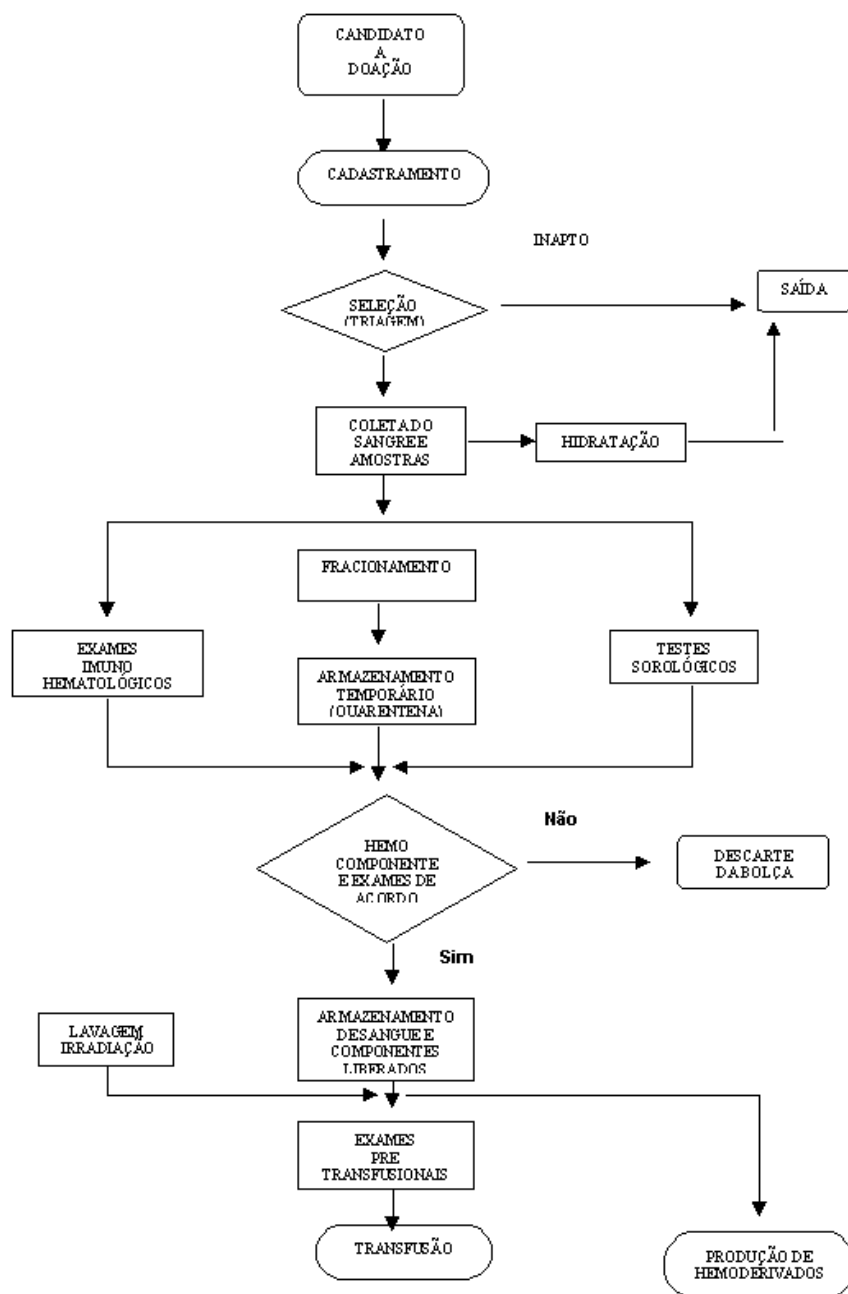
WINSTON, D.J. et al. Cytomegalovirus infections associated with leukocyte transfusions. **Ann Intern Med** 93:671, 1980.

YURTSEVER, S. et al. Portadores de HBV/DNA entre doadores de sangue não reativos ao antígeno de superfície. In: Boletim da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia - HEMO 98**. Porto Alegre. Vol. XX - out.98. p.49 P A 119. 1998.

ANEXOS

ANEXO 1

Ciclo do Sangue



ANEXO 2

Triagem Clínica

ANEXO 2

Triagem Clínica

FICHA DE
TRIAGEM CLÍNICA

Senhor(a) Doador(a), você passará por uma entrevista (Triagem Clínica) cujas perguntas estão relacionadas abaixo. Leia com atenção e responda com sinceridade, assinalando com um **X** em **SIM** ou **NÃO**. Esta etapa é muito importante pois visa proteger o doador e as pessoas que vão receber sangue.

Apesar de serem feitos vários testes com o sangue doado antes de ser liberado para outra pessoa, não existe 100% de segurança para o receptor, pois há um período chamado de janela imunológica, tempo entre a contaminação por agentes infecciosos e a positividade do teste. Isso quer dizer que a pessoa pode ter um vírus e este não ser detectado através dos testes. Quando isso acontece chamamos de falso negativo. Assim como, também um teste pode ser positivo sem que o doador seja portador da doença, o que chamamos de falso positivo.

Leia, assinale com X em Sim ou Não as questões abaixo formuladas.

		SIM	NÃO
01	Você leu a orientação acima e entendeu o que é janela imunológica?		
02	Já doou Sangue?		
03	Foi recusado ou teve teste alterado em doações anteriores?		
04	Alimentou-se hoje?		
05	Dormiu bem a noite?		
06	Vai dirigir caminhão, ônibus, moto ou fazer atividades em altura (escada, andaime ou telhado), com máquina pesada (serra, prensa), mergulho, surfe, etc.?		
07	Sentiu-se mal em alguma doação anterior?		
08	Tomou bebida alcoólica nas últimas 12 horas?		
09	Possui hábito de tomar bebida alcoólica todos os dias?		
10	Está resfriado, com febre, tosse ou dor de garganta?		
11	Está tomando ou tomou remédio nos últimos 7 dias?		
12	Recebeu vacina nos últimos 12 meses?		
13	Fez acupuntura ou tatuagem nos últimos 12 meses?		
14	Teve Hepatite ou contato com portador(a) nos últimos 6 meses?		
15	É portador (a) de doença de Chagas ou teve malária?		
16	Esteve fora de Santa Catarina nos últimos 6 meses e/ ou Países da Europa após 1980?		
17	Teve Tuberculose ou doença pulmonar?		
18	Sente dor no peito (coração) ou falta de ar/cansaço		
19	Já teve câncer?		
20	Você é portador(a) de diabetes (açúcar no sangue)?		
21	Já teve desmaio/convulsão (ataque)?		
22	É portador(a) de Hanseníase (lepra) ou possui doença de pele?		

CONTINUA NO VERSO ➡

CAP 027

ANEXO 2

Triagem Clínica

		SIM	NÃO
23	É portador(a) da doença da Tireóide?		
24	É portador(a) de Reumatismo ou doença Renal (rim)?		
25	Tem ou teve doença do sangue ou sangramento / anemia?		
26	Já teve internado (a) em clínica de recuperação? (álcool, drogas)		
27	Foi operado (a) NOS ÚLTIMOS 12 MESES?		
28	Fez tratamento dentário na última semana?		
29	Recebeu Sangue, nos últimos 12 meses?		
30	Teve perda de peso nos últimos 03 meses?		
31	Teve ou está com ingua pelo corpo (pescoço, axila e virilha)?		
32	Teve diarreia nos últimos 7 dias?		
33	Tem ou teve lesões esbranquiçadas na boca/garganta?		
34	É portador ou já teve: Sífilis, Gonorréia, AIDS ou outras doenças Venéreas?		
35	Utilizou ou utiliza drogas ilícitas (Maconha, Craque, Cocaína, LSD) e outros?		
36	Já foi preso (cadeia penitenciária)?		
37	Já relacionou-se sexualmente com parceiro(a) do mesmo sexo?		
38	Você teve mais de 1 parceiro (a) sexual nos últimos 12 meses?		
39	Teve relação sexual com prostitutas nos últimos 12 meses?		
40	Veio doar só para fazer o exame de AIDS, HEPATITE?		
41	Feriu-se com material contaminado de sangue nos últimos 12 meses?		
42	Você fez endoscopia nos últimos 12 meses?		
43	Você tem algum outro problema de saúde?		
44	Está menstruada, grávida ou amamentando?		
45	Teve aborto ou parto há menos de 3 meses?		
46	Você recebeu vacina Pós parto nos últimos 12 meses?		

TERMO DE RESPONSABILIDADE

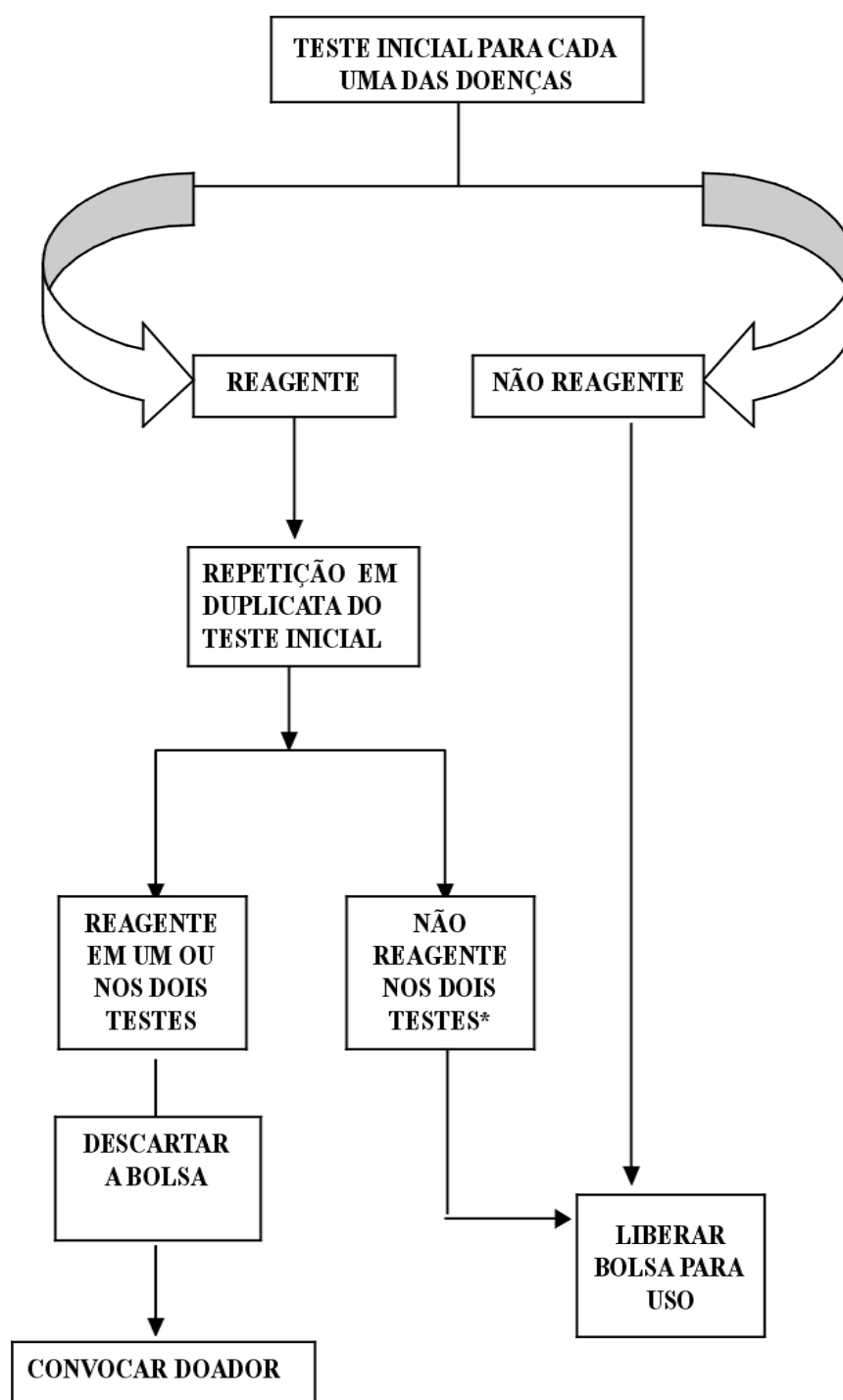
Declaro que compreendi as orientações e as questões contidas nesta ficha e que as informações que prestei são verdadeiras. Autorizo a utilização do meu sangue em pesquisa e nos testes exigidos pelas leis e normas técnicas vigentes e permito que meu nome seja incluído no arquivo de doadores potenciais. É de livre espontânea vontade que faço minha Doação de Sangue para uso a critério do HEMOSC, desde que atenda aos requisitos necessários.

☐ 450 ± 45 ml de sangue ☐ Rejeitado Temporariamente
☐ Plaquetaférese ☐ Rejeitado definitivamente **CÓDIGO:** _____
☐ Leucoaférese ☐ Coleta de amostra/ Aférese

ASSINATURA DO DOADOR: _____

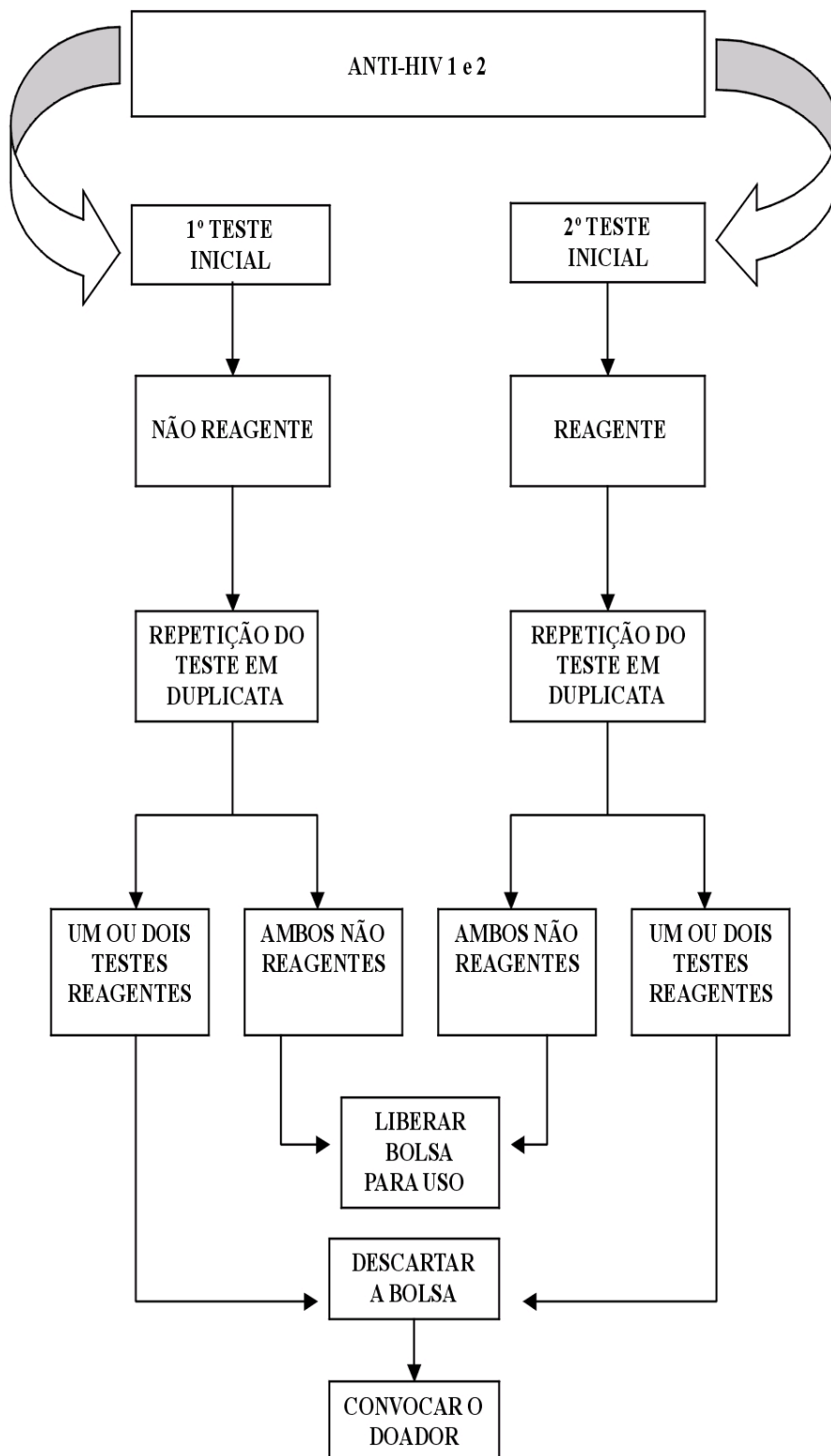
ANEXO 3

Algoritmo para a testagem e liberação de bolsas de sangue



[http:// \(e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=11662\)](http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=11662)

ANEXO 4

Algoritmo da Triagem sorológica para anti-HIV 1/2**B4 - Primeiro teste não reagente e segundo teste reagente:**

ANEXO 5

EXAMES SOROLÓGICOS

Bioelisa CMV IgM

Esquema do procedimento

Operações prévias

Todos os reativos devem estar a temperatura ambiente antes de iniciar-se o ensaio.

Diluir 1/10 a solução de lavagem concentrada com água destilada ou deionizada. Para uma placa completa, misturar 50 ml de solução de lavagem concentrada com 450 ml de água. No caso de não utilizar-se uma placa completa, preparar a parte proporcional de solução.

Os reativos líquidos devem ser homogeneizados suavemente antes do seu uso.

Diluir o tampão de diluição 1/10 com água destilada ou deionizada. Se a solução concentrada apresenta cristais, dissolvê-lo as antes em banho-maria a 37°C. Se recomenda utilizar a solução recém diluída.

Preparar diluições 1/101 das amostras a serem analisadas, com o tampão de diluição recém preparado, adicionando 10 µl de soro em 1 ml de tampão. Misturar bem. NÃO DILUIR OS CONTROLES, JÁ ESTÃO PRONTOS PARA USAR.

Realização da prova

- 1- Transferir 100 µl de cada amostra diluída e 100 µl de cada controle aos pocinhos correspondentes. Usar 2 pocinhos para o controle negativo, 2 para o positivo e 4 para o controle cut-off. Deixar vazio um pocinho para o branco.
- 2- Cobrir a placa com uma folha adesiva e incubar durante 1 hora a 37°C.
- 3- Durante os últimos 15 minutos desta incubação preparar o volume necessário de conjugado para uso. Para cada tira de 8 pocinhos misturar 1 ml de tampão de diluição, 10 µl de conjugado e 10 µl de controle de antígeno. Homogeneizar bem.
- 4- Retirar a folha adesiva. Aspirar o conteúdo dos pocinhos e enchê-los completamente (aproximadamente 300 µl) com solução de lavagem diluída. Repetir o processo de aspiração e lavagem quatro vezes. Após a última lavagem, golpear a placa invertida sobre um papel absorvente para eliminar qualquer excesso de líquido nos pocinhos.
- 5- Pipetar 100 µl de conjugado em cada pocinho, exceto no do branco. Evitar a formação de bolhas.
- 6- Cobrir a placa com folha adesiva e incubar durante 1 hora a 37°C.
- 7- Durante os últimos 5-10 minutos desta incubação, preparar o substrato/cromógeno. Se for utilizar toda a placa colocar 280 µl de cromógeno (TMB) diretamente no frasco de tampão substrato (14 ml), e homogeneizar bem. Se não for utilizar toda a placa, preparar a quantidade necessária indicada na tabela 1. A solução para uso deve ser incolor; descartar caso se torne azul.

TABELA 2

Tiras requeridas	1	2	4	6	8	10	12
Tampão substrato ml	1	2	4	6	8	10	12
Solução de cromógeno µl	20	40	80	120	160	200	240

NOTA: A temperatura de fusão do DMSO é de 18°C, por isso, deixar que o frasco que contém o cromógeno (TMB em DMSO) alcance a temperatura de 20-25°C para que se descongele completamente e homogeneizar bem antes de usar. É normal que o cromógeno apresente cor amarelada. Evitar expor o TMB a fontes de luz intensa.

- 8- Lavar novamente os pocinhos como descrito no item 4.
- 9- Colocar 100 µl de solução substrato-TMB em todos os pocinhos, inclusive o branco.
- 10- Incubar a placa sem cobrir durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
- 11- Parar a reação adicionando-se 100 µl de solução de bloqueio em cada pocinho. Efetuar a adição na mesma seqüência e com os mesmos intervalos observados na adição do substrato-TMB.
- 12- Ajustar o zero do leitor com o pocinho do branco e ler a absorbância de cada um dos pocinhos a 450 nm, no prazo máximo de 30 minutos. Se for feita leitura bicromática, utilizar filtro de 620 nm como referência.

Controle de qualidade

Para ser considerado válido, o ensaio deve cumprir os seguintes pontos:

- 1- Controle cut-off: calcular a média dos valores de absorbância obtidos para o controle cut-off. Cada um dos 4 valores individuais de absorbância não deve variar mais que 25% da média calculada. Se alguns dos valores não estiver dentro dos limites, deve-se descartá-lo e recalculá-lo a média. Se forem mais de dois os valores fora dos limites a prova deverá ser repetida.
- 2- Controle positivo: absorbância igual ou maior que 0,6.
- 3- relação controle negativo / controle cut-off: <0,5.
- 4- relação controle positivo / controle cut-off: >2,0.
- 5- Branco do substrato: absorbância igual ou menor que 0,10.

Resultados qualitativos

o valor cut-off da técnica é a média dos valores de absorbância obtidos para o soro controle cut-off. Dividir o valor de absorbância de cada amostra pelo valor cut-off.

- As amostras que apresentem uma relação absorbância / cut-off > 1,1 serão consideradas positivas de anticorpos IgM anti-CMV.
- As amostras que apresentem uma relação absorbância / cut-off <0,9 serão consideradas negativas de anticorpos IgM anti-CMV.
- As amostras que apresentem uma relação absorbância / cut-off entre 0,9 e 1,1 serão consideradas indeterminadas.

Resultados quantitativos

Para a determinação quantitativa da concentração de IgM anti-CMV:

- 1- Calcular a média das absorbâncias dos calibradores. Fazer o mesmo para as amostras se estas forem testadas em duplicata.
- 2- Calcular a concentração das IgM em Unidades Arbitrárias (UA/ml) dividindo a absorbância da amostra pela absorbância do soro cut-off e multiplicando por 10.

$$\text{UA/ml} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do soro cut-off}} \times 10$$

Resultados UA/ml Interpretação

>11	Positivo para anticorpos IgM anti-CMV
<9	Negativo para anticorpos IgM anti-CMV
9 a 11	Indeterminado

Os resultados quantitativos permitem seguir a soroconversão da IgM.

Bioelisa CMV IgG

Esquema do procedimento

Operações prévias

Todos os reativos devem estar a temperatura ambiente antes de iniciar-se o ensaio.

Os reativos líquidos devem ser homogeneizados suavemente antes do seu uso.

Diluir 1/10 a solução de lavagem concentrada com água destilada ou deionizada. Para uma placa completa, misturar 50 ml de solução de lavagem concentrada com 450 ml de água. No caso de não utilizar-se uma placa completa, preparar a parte proporcional de solução.

Preparar diluições 1/101 dos controles e amostras a serem analisadas, com o tampão de diluição, adicionando, por exemplo, 10 µl de soro em 1 ml de tampão. Misturar bem.

Para diluir o conjugado para uso, adicionar 300µl de conjugado concentrado ao frasco que contém 15 ml de diluente do conjugado. Se não for utilizar toda a placa, preparar a quantidade necessária segundo o número de tiras a utilizar conforme se indica na Tabela 1.

TABELA 1

Tiras utilizadas	1	2	4	6	8	10	12
Diluente do conjugado ml	1	2	4	6	8	10	12
Conjugado concentrado µl	20	40	80	120	160	200	240

Homogeneizar. O conjugado diluído é estável por 15 dias a 2-8°C

Realização da prova

- 1- Transferir 100µl de cada amostra, controle e calibradores diluídos aos pocinhos correspondentes. Testar os calibradores em duplicata. Deixar vazio um pocinho para o branco.
- 2- Cobrir a placa com uma folha adesiva e incubar durante 1 hora a 37°C.
- 3- Retirar a folha adesiva. Aspirar o conteúdo dos pocinhos e enchê-lo completamente (aproximadamente 300µl) com solução de lavagem diluída. Repetir o processo de aspiração e lavagem quatro vezes. Após a última lavagem, golpear a placa invertida sobre um papel absorvente para eliminar qualquer excesso de líquido nos pocinhos.
- 4- Adicionar 100µl de conjugado diluído em cada pocinho, exceto o do branco. Evitar a formação de bolhas ao efetuar a adição do conjugado.
- 5- Cobrir a placa com uma folha adesiva e incubar durante 30 minutos a 37°C.
- 6- Durante os últimos 5-10 minutos desta incubação, preparar o substrato/cromógeno. Se for utilizar toda a placa colocar 280µl de cromógeno (TMB) diretamente no frasco de tampão substrato (14 ml), e homogeneizar bem. Se não for utilizar toda a placa, preparar a quantidade necessária indicada na tabela 2. a solução para uso deve ser incolor; descartar caso se torne azul.

TABELA 2

Tiras utilizadas	1	2	4	6	8	10	12
Tampão substrato ml	1	2	4	6	8	10	12
Cromógeno (TMB) µl	20	40	80	120	160	200	240

NOTA: A temperatura de fusão do DMSO é de 18°C, por isso, deixar que o frasco que contém o cromógeno (TMB em DMSO) alcance a temperatura de 20-25°C para que se descongele completamente e homogeneizar bem antes de usar. É normal que o cromógeno apresente cor amarelada. Evitar expor o TMB a fontes de luz intensa.

- 7- Lavar novamente os pocinhos como descrito no passo 3.
- 8- Pipetar 100µl de solução substrato-TMB em todos os pocinhos, inclusive o branco.
- 9- Incubar a placa sem cobrir durante 30 minutos à temperatura ambiente (20-25°C).
- 10- Parar a reação adicionando 100µl de solução de bloqueio em cada pocinho. Efetuar a adição na mesma seqüência e com os mesmos intervalos observados na adição do substrato-TMB.
- 11- Agitar ligeiramente a placa para misturar o conteúdo dos pocinhos. Ajustar o zero do leitor com o pocinho do branco e ler a absorbância de cada um dos pocinhos a 450nm no prazo máximo de 30 minutos. Se for feita leitura bicromática, utilizar filtro de 620nm como referência.

Controle de qualidade

Para que uma prova possa ser considerada válida, deve-se cumprir os seguintes pontos:

- a. Controle negativo: absorbância menor que 0,15.
- b. Calibrador positivo baixo: absorbância igual ou maior que 0,15.
- c. Calibrador positivo alto: absorbância igual ou maior que 0,6.
- d. Relação calibrador positivo alto / calibrador positivo baixo: igual ou maior que 2,0.
- 6- Relação controle negativo / calibrador positivo baixo: igual ou menor que 0,5.
- 7- Branco de substrato: absorbância igual ou menor que 0,1.

Resultados

Qualitativa

- Calcular a absorbância média do calibrador positivo baixo. O valor obtido é cut-off.
- As amostras que apresentarem o valor de absorbância igual ou superior ao valor cut-off, são consideradas positivas para IgG anti-CMV.

Quantitativa

Para a determinação quantitativa da concentração IgG anti-CMV:

- 1- Calcular a absorbância média do calibrador positivo baixo. A concentração de IgG anti-CMV do calibrador positivo baixo é de 0,25UI/ml.
- 2- Calcular a absorbância média do calibrador positivo alto. A concentração de IgG antiCMV do calibrador positivo alto é de 2,5 UI/ml.
- 3- Representar os valores médios das absorbâncias do calibrador positivo baixo, frente às suas concentrações em UI/ml na folha de papel semi-logarítmico incluída no kit.
- 4- Traçar a reta que une ambos os pontos.
- 5- A reta de calibração permite obter a concentração de cada amostra em UI/ml, a partir de suas respectivas absorbâncias.

NOTA: Se uma amostra apresentar valor superior ao do calibrador positivo alto, deve-se repetir o teste diluindo-se o soro com o tampão de diluição. O resultado obtido deve ser multiplicado pelo fator de diluição (p. ex. se uma amostra for diluída 1/500, o resultado deve ser multiplicado por 5, uma vez que a diluição normal do teste é 1/101).

Interpretação dos resultados

Bioelisa CMV IgG pode ser utilizado como indicador do estado imunitário do paciente e como ajuda no diagnóstico de infecção aguda por CMV.

☐ Não imune: absorbância inferior ao valor cut-off.

☐ Imune: absorbância igual ou superior ao valor cut-off.

Um aumento da concentração de IgG anti-CMV igual ou superior a 4 vezes ao analisar amostras pareadas tomadas no intervalo de 3-4 semanas, pode ser indicativo de uma

infecção recente. No entanto é aconselhável associar esse teste à detecção de IgM específica para anti-CMV. Recomenda-se o uso de **Bioelisa CMV IgM (imunocaptura) (COD. 3000-1212)**

TESTE DE ENZIMAIMUNOENSAIO PARA HBSAG - ORGANON

Descrição do procedimento

- 1- Montar a placa do respectivo teste com o número de controles que o kit preconiza, acessando Sorologia e em seguida a **Atividade Montagem de Placas**, registrar data, turno, teste e placa. Ler todas as amostras e salvar. Imprimir o relatório **de Montagem de Placas**, acessando **Relatórios** e em seguida **Montagem de Placas**;
- 2- Os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18-25°C) antes do início do teste;
- 3- Retirar o número de tiras necessárias a realização do teste. Observar se as esferas do conjugado encontram-se no fundo das cavidades;
- 4- Pipetar 100µl de amostra e de controles. Incluir 3 controles negativos e 1 controle positivo;
- 5- Cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C por 60 minutos;
- 6- Ao final da incubação, preparar o substrato TMB (Tetrametilbenzidina);
- 7- Lavar 4 vezes com tampão fosfato diluído (soak timer 60")
- 8- Pipetar 100µl de substrato TMB em cada cavidade
- 9- Incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente (18 a 25°C)
- 10- Parar a reação com 100 µl de ácido sulfúrico, 1m em cada cavidade
- 11- Ler a 450nm (comprimento simples) ou 450 e 620nm como referência (comprimento duplo);

Resultado do procedimento:

Amostras não reagentes: DO menor ou igual ao cut-off

Amostras reagentes: DO acima ou igual ao cut-off

Critério de Validade do CN e CP

O CN deve ser < 0,200. Eliminar se CN > 0,200

Validação do Teste

- 1- Mais da metade dos CN forem válidos
- 2- $CP - CNx > 0,400$

Cálculo do Cut off

$CNx + 0,050$

TESTE DE ENZIMAIMUNOENSAIO PARA ANTI-HBC - ORTHO

Descrição do procedimento

- 1- Os reagentes e amostras devem estar a temperatura ambiente (20 - 24°C) antes do início do teste, assim com a temperatura do laboratório.

- 2- Retirar o número de tiras necessárias para a realização dos testes.
- 3- Pipetar 10 ul de amostra e de controles.
- 4- Deixar o primeiro poço para o branco, pipetar 3 controles negativos e 2 positivos. Em seguida pipetar as amostras.
- 5- Pipetar 200 ul de diluente de amostras em todas as cavidades, exceto a primeira.
- 6- Cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C por 60 minutos.
- 7- Retirar da incubadora e lavar na lavadora Ortho 5 vezes com tampão fosfato.
- 8- Pipetar 200 ul do anticorpo conjugado em todas as cavidades, exceto na primeira.
- 9- Cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C por 60 minutos.
- 10- Ao final da incubação, preparar a solução de OPD.
- 11- Retirar da incubadora e lavar na lavadora Ortho 5 vezes com tampão fosfato.
- 12- Pipetar 200ul de substrato em todas as cavidades.
- 13- Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente e no escuro.
- 14- Interromper a reação com 50ul de ácido sulfúrico 1Mol/l.
- 15- Ler a 492 nm.

Resultados do procedimento:

- Um teste é positivo se amostra \leq valor do cut-off.
- Um teste é negativo se amostra $>$ valor do cut-off.

Cálculos

- $S = \text{ABS da amostra}$.
- Eliminar os CN C/ $\text{ABS} \leq 0,750$
- Eliminar os CN C/ $\text{ABS} \leq 0,300$
- Calcular N_x e P_x .
- Eliminar os CN individuais com $\text{ABS} < 0,7 N_x$ ou $N > 1,3 N_x$.
- Recalcular N_x e repetir a etapa anterior, caso seja necessário.
- A rotina é válida se menos que a metade do No de controles tenha sido eliminado e $N_x - P_x > 0,500 \text{ CUTTOFF} = 0,25(N_x + 3P_x)$.

Teste para detecção de Anti-HBS NEW – HEPANOSTIKA – ORGANON®

Descrição do procedimento:

- 1- Os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18-25°C) antes do início do teste;
- 2- Colocar no suporte de tiras o número necessário de tiras microelisa;
- 3- Organizar as cavidades dos controles do ensaio de forma que a cavidade 1 A, organize todos os controles em colunas (verticalmente) como demonstrado abaixo:
Cavidade 1A acrescentar 100 ul dos controles: 2CN; 2CPF; 2CPA em cada placa, independente do número de tiras usadas. Misturar bem os controles antes do uso.
Acrescentar 100 ul de amostra em cada cavidade da microplaca após os controles;
- 4- Cobrir as tiras com fita adesiva. Incubar a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 60 ± 5 minutos;
- 5- Lavar cada cavidade quatro vezes com solução tampão de lavagem diluída;
- 6- Durante a etapa 8:
Para cada 6 tiras abrir um frasco contendo conjugado liofilizado. Descartar a tampa de borracha e adicionar 5,6 ml de diluente de conjugado a cada frasco, deixar dissolver completamente (aproximadamente 3 minutos) e homogeneizar.
- 11- Pipetar 100 ul da solução de conjugado em cada cavidade.
- 12- Cobrir as tiras com fita adesiva. Incubar a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 60 ± 5 minutos;
- 13- Lavar cada cavidade quatro vezes com solução tampão de lavagem diluída;

- 14- Deixar o frasco contendo solução TMB (tetrametilbenzidina) atingir 20 - 25°C antes do uso. A solução TMB deve estar completamente dissolvida. Para cada 6 tiras, preparam-se 5,6 ml de solução de substrato como segue:
Adicionar 0,5 ml de peróxido/tampão substrato em 5 ml de água destilada e misturar. Adicionar 100 µl de solução TMB e misturar. A solução de substrato deve estar praticamente incolor quando utilizada.
- 15- Adicionar 100 µl de substrato preparado em cada cavidade. Não cobrir com fita
- 16- Incubar à temperatura ambiente (18 - 25°C), no escuro, durante 30 ± 2 minutos;
- 17- Interromper a reação c/ 100 µl de ácido sulfúrico 1 ou 2 mol/l em cada cavidade.
- 18- Ler as densidades óticas em leitora apropriada com o programa instalado em 450 nanômetros (nm). A leitura deverá ser feita dentro dos 15 minutos após a adição do ácido sulfúrico.

Resultados do procedimento:

Uma amostra é **positiva** se absorbância da amostra em teste for \geq valor de cutoff

Uma amostra é **negativa** se absorbância da amostra em teste for $<$ valor de cutoff.

Verificação da validade da execução do teste:

A execução do teste só será válida se menos da metade do número de cada controle tenha sido eliminada; $N < 0,400$; $PB > 1,4 N$ e $PA - PB \geq 0,500$.

Cálculo do valor de cut-off:

O valor de cut-off é $0,5 (N + PB)$

TESTE IMUNOENZIMÁTICO PARA A DETECÇÃO DE ANTICORPOS FRENTE AO VÍRUS DA HEPATITE C – ANTI-HCV – MUREX 4.0

Descrição do procedimento

- 1- Verificar a temperatura ambiente: os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18 a 25°C) antes do início do teste, assim como a temperatura do laboratório;
- 2- Retirar o número de tiras necessárias para a realização dos testes;
- 3- Dispensar 90µl de diluente de amostra em cada cavidade;
- 4- Dispensar 20 µl de amostra e 20 µl de controles (2 CN, 1 CP);
- 5- Dispensar 90 µl de diluente de amostra em cada cavidade;
- 6- Incubar durante 60 minutos à 37°C;
- 7- Lavar 5 vezes;
- 8- Dispensar 100 microlitros de substrato em cada cavidade;
- 9- Incubar durante 30 minutos à 37°C;
- 10- Solução stop: 50 microlitros;
- 11- Efetuar leitura em 450/620nm (nanômetros);

Resultados do procedimento:

- Amostras não reagentes: DO menor que o cut-off
- Amostras reagentes: DO acima que o cut-off

Cálculos

Validação e cut-off:

- Cut-off: Média dos controles negativos + 0.600
- Validação: Controle negativo tem de ser menor que 0,250
Controles positivos tem de ser maior que a média dos controles negativos + 0,800

TÉCNICA DE ENZIMAIMUNOENSAIO PARA HIV-1/HIV-2 - ORGANON

Descrição do procedimento

- 1- Os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18-25°C) antes do início do teste;
- 2- Retirar o número de tiras necessárias a realização do teste. Observar se as esferas do conjugado encontram-se no fundo das cavidades;
- 3- Pipetar 100µl de amostra e de controles. Incluir 3 controles negativos e 1 controle positivo;
- 4- Cobrir com fita adesiva e incubar a 37°C por 60 minutos;
- 5- Ao final da incubação, preparar o substrato TMB (Tetrametilbenzidina);
- 6- Lavar 4 vezes com tampão fosfato diluído (soak timer 60")
- 7- Pipetar 100µl de substrato TMB em cada cavidade
- 8- Incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente (18 a 25°C)
- 9- Parar a reação com 100 µl de ácido sulfúrico, 1m em cada cavidade
- 10- Ler a 450nm (comprimento simples) ou 450 e 620nm como referência (comprimento duplo);

Resultado do procedimento:

Amostras não reagentes: DO menor ou igual ao cut-off

Amostras reagentes: DO acima ou igual ao cut-off

Cálculos

Critério de Validade do CN e CP

O CN deve ser $< 0,200$. Eliminar se $CN > 0,200$

Validação do Teste: Mais da metade dos CN forem válidos

CP - $CN_x > 0,400$

Cálculo do Cutt- Off

$CN_x + 0,050$

TESTE PARA DETECÇÃO DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA DOS TIPOS 1 E 2 (HIV-1/HIV-2) – ORTHO®

Descrição do procedimento:

- 1- Deve-se então montar a placa do respectivo teste com o número de controles que o kit preconiza, acessando Sorologia e em seguida a **Atividade Montagem de Placas**, registrar data, turno, teste e placa. Ler todas as amostras e salvar. Imprimir o relatório de **Montagem de Placas**, acessando **Relatórios** e em seguida **Montagem de Placas**;
- 2- Verificar a temperatura ambiente: os reagentes e amostras devem estar à temperatura ambiente (18 a 25°C) antes do início do teste, assim como a temperatura do laboratório;
3. Colocar no suporte de tiras o número necessário de tiras microelisa;
4. Organizar as cavidades dos controles do ensaio de forma que a cavidade 1 A, organize todos os controles em fila (horizontalmente) ou colunas (verticalmente) como demonstrado abaixo:

5. Cavidade 1A Branco de substrato, 3 CN, 2CP em cada placa, independente do nº de tiras usadas. Misturar bem os controles antes do uso.
6. Usando uma pipeta multi-canal, acrescentar 50 µl de diluente da amostra em cada cavidade da placa **exceto 1A**;
7. Acrescentar 150 µl de amostra ou controle com uma micropipeta e ponteiros descartáveis. Misturar as amostras com o diluente de amostras aspirando e colocando repetidamente a amostra;
8. Cobrir as tiras com fita adesiva. Incubar a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 60 ± 5 minutos;
9. Lavar cada cavidade quatro vezes com solução tampão de lavagem diluída;
12. Adicione 200 µl de solução substrato a todas as cavidades, **exceto 1A**;
13. Cobrir as tiras com fita adesiva. Incubar a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 60 ± 5 minutos;
14. Durante os 10 minutos finais da incubação, preparar uma solução substrato (item 16);
15. Lavar cada cavidade quatro vezes com solução tampão de lavagem diluída;
16. Preparar apenas uma quantidade suficiente de substrato para uso imediato, conforme tabela abaixo:

NÚMERO DE CAVIDADES	NÚMERO DE PLACAS	NÚMERO DE TABLETES DE OPD	TAMPÃO DE SUBSTRATO (ml)
24	0,25	1	6
48	0,50	2	12
72	0,75	3	18
96	1	4	24
192	2	7	42
288	3	10	60

17. Adicionar 200 µl de substrato preparado em cada cavidade. Não cobrir com fita adesiva;
18. Incubar à temperatura ambiente ($18 - 25^\circ\text{C}$) durante 30 ± 5 minutos;
19. Interromper a reação acrescentando 100 µl de ácido sulfúrico em cada cavidade. As placas devem ser lidas dentro de 15 minutos;
20. Ler as densidades óticas (DO) em leitora apropriada com o programa instalado em $450\text{nm} \pm 5\text{nm}$ e $620 - 700\text{nm}$; A leitura deverá ser feita dentro dos 60 minutos após a adição do H_2SO_4 4N.

Resultados do procedimento:

- Uma amostra é não reativa se a absorbância da amostra for inferior ao valor do cutoff.
- Uma amostra é reativa se a absorbância da amostra for igual ou superior ao valor de cutoff.
- É importante por uma margem de 10% para cima e para baixo do cutoff (zona cinza).

Cálculos

- Os cálculos devem ser feitos separadamente para cada placa de tiras.

Qualificação dos valores de controle negativo (NC):

A absorbância do controle negativo deve ser $< 0,085$ e $> 0,005$.

Se 2 ou mais valores estiverem acima de 0,085, a bateria de teste é considerada inválida e deve ser repetida.

Valor do cutoff = $\text{NCX} + 0,250$

ANEXO 6

QUADRO 1 - Marcadores, testes, marca, fabricante, procedência, metodologia, geração, nº de lotes e equipamentos utilizados na triagem sorológica realizada no Hemocentro Regional de Lages, no período de 01 de agosto de 2003 a 31 de janeiro de 2004.

Marcador	kits/ Marca /Fabricante - Procedência	Metodologia/ geração	Lotes	Equipamentos utilizados
HBsAg	Hepanostika® - HBsAg Uni- form II Biomérieux Boxtel, NL, Holanda	ELISA III	B93LC, B94GG, B94LB, B94KF, B94LF, B94MH	Aparelho automatizado TeK Time
Anti-HBc	Hepatitis B Virus Core Antigen (recombinant) ORTHO® Ortho- Clinical Diagnostics Raritan, New Jersey, USA	ELISAI	CHK 427; CHK 429; CHK431, CHK433	Lavadora auto wash II, leitora ELX 800
Anti-HBs	Hepanostika® - Anti-HBs New Biomérieux Boxtel, NL, Holanda	ELISAI	02090402 03020403	Aparelho automatizado TeK Time
Anti-HCV	Murex® anti-HCV (version 4.0) Murex - Biotech S.A (Pty) Ltd Kyalami , África do Sul	ELISA III versão 4.0	M816010, M820220, M819310, M822810, M823310, M820910, M823410	Aparelho automatizado Mini Swift
Anti-HIV 1/2	Human Immunodeficiency Virus Types 1 and 2 (HIV-1 and HIV-2) ORTHO® HIV- 1/HIV-2 Ab-Capture ELISA Test System Ortho-Clinical Diagnostics Raritan, New Jersey, USA	ELISAI	HVK172, HVK173, HVK177, HVK178, HVK 180	Lavadora auto wash II, leitora ELX 800
Anti-HIV 1/2	Antígeno HIV-1 e anticorpo HIV-1 e HIV-2: Vironostika® HIV Uni-formII Ag/Ab. Biomérieux Boxtel, NL, Holanda	ELISA III	A53KA, A53MD, A53NG, A54DA, A54BH, A54DH, A54EF	Aparelho automatizado TeK Time
Anti-CMV IgG	Bioelisa CMV IgG (Biokit) Biokit Espanha	ELISAI	L0602 B2704	Lavadora auto wash II, leitora ELX 800
Anti-CMV IgM	Bioelisa CMV IgM (Biokit) Biokit Procedência da Espanha	ELISAI	A4306 E 4004	Lavadora auto wash II, leitora ELX 800

ANEXO 7**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Prezado Sr (a)

Está sendo desenvolvida uma pesquisa no HEMOCENTRO REGIONAL DE LAGES, cujo tema é "Estudo soroepidemiológico das hepatites virais tipo B, C, HIV I/II e citomegalovírus em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages", na qual objetiva levantar dados sobre os doadores de sangue da região serrana no que concerne a prevalência de transmissão de hepatite B, C, HIV e citomegalovírus pela transfusão sangüínea, traçar o perfil sorológico dos doadores de sangue .

Não se espera nenhum tipo de desconforto ao senhor (a) durante a coleta desta amostra, posto que este procedimento é normalmente efetuado durante a sua doação de sangue.

O senhor (a) terá acesso a qualquer tempo às informações obtidas nesta pesquisa, caso seja de seu desejo. Poderá desistir de participar desta pesquisa, em qualquer etapa, sem qualquer penalidade, precisando informar apenas ao pesquisador a intenção neste sentido podendo ligar para (49- 2223922 ramal 220).

A pesquisa não visa fins lucrativos para o senhor (a) e para os pesquisadores, sendo confidencial, o seu nome não será divulgado em quaisquer de suas fases. Concorde também com a publicação dos resultados obtidos na pesquisa.

O processo de seleção ao doador, pelo qual o (a) senhor (a) está passando no momento neste serviço hemoterápico é totalmente independente da pesquisa ora efetuada, estando livre para optar se e de seu desejo participar ou não dessa pesquisa.

Eu, _____(nome completo)_____ fui esclarecido sobre a pesquisa **"Estudo soroepidemiológico das hepatites virais tipo B, C, HIV I/II e citomegalovírus em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages"**, e concordo que meus dados sejam utilizados na realização da mesma.

Lages, ____/____/____

Assinatura: _____ RG: _____

Fone de contato: _____

ANEXO 8

ANEXO 8



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARNA
 CAMPUS UNIVERSITÁRIO - TRINDADE CEP: 88040-900 - FLORIANÓPOLIS - SC
 TELEFONE (048) 234-1755 - FAX (048) 234-4069

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS
PARECER CONSUBSTANCIADO – PROJETO Nº 116/2003

I – IDENTIFICAÇÃO

Título do projeto: “Estudo soroepidemiológico das hepatites virais tipo B, C, HIV I/II e citomegalovírus em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Lages.”

Pesquisador responsável: Prof^o Dr. Celso Spada

Pesquisador Principal: Mestranda Marli Adelina Souza

Instituição em que será realizado o estudo: HEMOSC/ Lages

Data de apresentação ao CEP SH: 06/6/2003

II – OBJETIVOS: * Realizar um estudo soroepidemiológico verificando a prevalência das hepatites virais, B, C, HIV I/II e citomegalovírus em doadores voluntários de sangue do Hemocentro Regional de Lages; * Detectar a prevalência do citomegalovírus em voluntários à doação e correlacionar com testes reagentes para Hepatite B, C e HIV I/II; * Fazer uma análise da importância da detecção de anticorpos para citomegalovírus na triagem sorológica dos doadores de sangue para receptores imunodeprimidos; * Detectar o fator de risco residual da transmissão de Hepatite B, C, HIV e CMC nas amostras de sangue dos doadores e as co-infecções existentes; * Avaliar o perfil do doador de sangue da região serrana considerando a influência de variáveis demográficas, sexo, grupo étnico, idade, grau de instrução e doadores de repetição.

III – SUMÁRIO DO PROJETO

Descrição e caracterização da amostra: O estudo a ser realizado será uma pesquisa experimental, com 3000 amostras de sangue (material biológico), coletadas de doadores voluntários do Hemocentro Regional de Lages. O sangue após coletado, será fracionado, aliquoteado e encaminhado para a realização dos testes sorológicos comuns na triagem sorológica dos doadores (Hepatite B, C e HIV), com a inclusão de mais um teste para citomegalovírus (CMC), pois este não faz parte da rotina de triagem. Os doadores (sujeitos da pesquisa) serão classificados com relação ao sexo, idade, estado civil, profissão, número de doações anteriores, etc.

Adequação da metodologia e das condições: Os métodos sorológicos empregados no estudo prospectivo (assim definido pela pesquisadora principal), serão os testes ELISA para triagem e Western Blot, PCR (*Polimerase Chain Reaction*), nos confirmatórios para anti-HIV I/II e anti-HCV. Seus princípios e técnicas variam de acordo com os reagentes antigênicos empregados. Está descrito detalhadamente os métodos sorológicos e os materiais a serem usados. A pesquisa será realizada no Laboratório de Sorologia do Hemocentro de Lages. Os confirmatórios para HIV e HCV serão realizados no HEMOSC COORDENADOR, em Florianópolis-SC. O suporte científico será obtido nas bibliotecas do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV-UDESC), UNIPLAC, UFSC, Pró-Sangue (SP), bibliotecas virtuais e sites da Internet. A pesquisa será desenvolvida pela pesquisadora principal (bioquímica responsável pelo Setor de Sorologia e aluna do Curso de Mestrado em Farmácia da UFSC),



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARNA
 CAMPUS UNIVERSITÁRIO - TRINDADE CEP: 88040-900 - FLORIANÓPOLIS - SC
 TELEFONE (048) 234-1755 - FAX (048) 234-4069

que contará com os trabalhos do bioquímico Gabriel Matos Muniz, da técnica Eloi das Graças Urio e da estagiária Marisa Baldo, sob a orientação do Prof. Dr. Celso Spada.

Comentários frente à Resolução 196/96 CNS e complementares:

Estrutura do Protocolo: * *Folha de Rosto*: adequadamente preenchida, exceção ao item 10 – Sujeitos da Pesquisa, que foi assinalado “*Não se aplica*, carecendo, assim de maiores esclarecimentos; * *Projeto de Pesquisa*: possui a descrição dos propósitos, dados, antecedentes científicos que justificam a mesma, relevância do estudo, bem como os demais itens previstos na legislação acima citada, aprovação pelo Corpo Clínico e Comissão de Ética do HEMOSC, **com exceção**: - não ficou claro no projeto qual o cálculo para o tamanho da amostra (3000); - critérios de inclusão e exclusão dos sujeitos da pesquisa (alertamos nesse caso, que a inclusão de doadores pertencentes a comunidades culturalmente diferenciadas, inclusive indígenas, será necessário atender a outros requisitos previstos na Resolução 196/96 e nas suas regulamentações complementares); - questionário a ser utilizado após a entrevista (perfil do sujeito) não foi anexado; - indefinição dos métodos estatísticos a serem usados; - concordância do HEMOSC em financiar o projeto (fornecimento de materiais, etc); - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE): - forma como irá obtê-lo (não está claro no Projeto); - fone ou endereço, para o caso do sujeito querer desistir de participar da pesquisa; - informar ainda no TCLE, que o desistente não sofrerá nenhuma penalidade; possíveis benefícios para o mesmo e/ou comunidade local e científica; - sugerimos a retirada do penúltimo parágrafo do TCLE, por achar desnecessário como está elaborado, pois o sujeito só o assinará, se primeiro concordar em participar da pesquisa de uma forma voluntária, depois de esclarecido na entrevista de seleção de doadores de sangue. Talvez possa ser incluído no consentimento pós-informação, no sentido de deixar claro que o mesmo não foi induzido ou obrigado a participar da pesquisa, por ser doador de sangue daquela Instituição; - Cronograma não deixa claro em que meses será feita a coleta de dados.

Parecer do CEP SH:

- () aprovado
- () reprovado
- (X) com pendência (detalhes da pendência)
- () retirado
- () aprovado e encaminhado ao CONEP

Justificativa: Carece de alguns ajustes e esclarecimentos, conforme descrição nos Comentários frente a legislação vigente sobre o assunto.

PARECER FINAL: Os ajustes e esclarecimentos foram realizados pela pesquisadora responsável, assim somos de parecer pela aprovação do projeto.
 Florianópolis, 28 de julho de 2003.

Parecer do CEP SH:

- ☒ (x) aprovado
- ☐ () reprovado
- ☐ () com pendência (detalhes pendência)*
- ☐ () retirado
- ☐ () aprovado e encaminhado ao CONEP

Informamos que o parecer dos relatores foi aprovado por unanimidade, em reunião deste Comitê na data de 28 de julho de 2003

Florianópolis, 28 de julho de 2003

Vera Lucia Bosco
Vera Lucia Bosco
Coordenadora do CEP SH.